

**Univerzita Karlova v Praze**

**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Zoologie



**Bc. Gabriela Příbáňová**

Subletální efekty insekticidů neonikotinoidů na migrační potenciál pavouků  
Sublethal effects of the insecticides neonicotinoids on migration abilities of  
spiders

Diplomová práce

Vedoucí práce: RNDr. Milan Řezáč, Ph.D.

Konzultant: RNDr. František Štáhlavský, Ph.D.

Praha, 2021

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 25. 4. 2021

.....  
vlastnoruční podpis

## Poděkování

Na prvním místě bych ráda poděkovala vedoucímu této práce RNDr. Milanu Řezáčovi, Ph.D. za odborné vedení a cenné rady, a to nejen při psaní diplomové práce, ale také v terénu a v laboratoři. Dále bych ráda poděkovala konzultantovi RNDr. Františku Šťáhlavskému, Ph.D. za celkovou pomoc a ochotu v průběhu i v závěrečném psaní diplomové práce, včetně jejího doladování. Poděkování patří doc. Mgr. Jiřímu Kohoutovi, Ph.D. za odborné konzultace, pomoc při statistickém vyhodnocení dat k této práci. V neposlední řadě bych chtěla poděkovat za odbornou pomoc s programem EthoVision XT Mgr. Martině Šalomové a RNDr. Filipu Tichánkovi. Následně s pomocí této diplomové práce děkuji Ing. Kristiánu Dominiku Hladkému a Mgr. Zuzaně Hladké. Také bych ještě ráda poděkovala za pomoc Ing. Janu Lukášovi, Ph.D. a Františku Dostálovi. Dále děkuji Mgr. Martinu Formanovi za poskytnutí rady ohledně chovu octomilek. Následně děkuji i Jiřímu Kadlecovi za pomoc se zpracováním nasbíraného živého materiálu pavouků, a to v případě nymfálních jedinců druhu *Phylloneta impressa* (L. Koch, 1881). Děkuji i Bc. Glebu Tugushevovi za vzájemnou podporu v laboratoři a i dalším kolegům a pracovníkům za pomoc a případné rady v laboratoři. Dále děkuji Ing. Jaroslavu Teršovi za informace o pesticidech (neonikotinoidech). Za pomoc s úpravou této diplomové práce děkuji Mgr. Janu Dolejšovi a Mgr. Denise Dolejšové. Také bych ráda poděkovala přátelům a obzvláště celé mé rodině, zejména za obrovskou podporu během celého mého studia, které díky ní bylo umožněno.

## Abstrakt

Důvodem používání pesticidů je hubení organismů způsobujících škody (tzv. škůdci) na různých plodinách a díky tomu zabránit případným ztrátám na úrodě. Jejich nežádoucím účinkem je negativní dopad na necílové organismy.

Předložená diplomová práce je zaměřena na vliv neonikotinoidů na bezobratlé živočichy, a to konkrétně na pavouky. Jejím hlavním cílem bylo zdokumentovat jejich vliv na behaviorální parametry ovlivňující migrační schopnosti, jako jsou lokomoce a tendence k šíření pomocí větru (tzv. ballooning). Práce porovnává vliv neonikotinoidů na modelové druhy, *Pardosa lugubris* (Walckenaer, 1802) a *Phylloneta impressa* (L. Koch, 1881) s různým způsobem lovu kořisti a srovnává u nich vliv na adultní a nymfální stádia. V laboratorních podmínkách byly na pavouky aplikovány pesticidy Actara<sup>®</sup> 25 WG, Biscaya<sup>®</sup> 240 OD, Confidor<sup>®</sup> 200 OD a Mospilan<sup>®</sup> 20 SP a byl testován jejich účinek při rozdílných koncentracích a různých způsobech aplikace.

Největší dopad na pavouky měl přípravek Confidor. Měl jednoznačně nejvýraznější negativní vliv na mobilitu a tendenci k šíření pomocí větru pavouků. Letální účinky způsobily neonikotinoidy u nymfálních jedinců *Pardosa lugubris*, a to zejména přípravek Confidor (u tarzální aplikace dokonce i 100% úmrtnost). Během pokusu studujícím vliv na lokomoci u adultních jedinců *Pardosa lugubris* bylo zjištěno, že došlo po 24 hodinách k výraznému odeznění paralýzy způsobené neonikotinoidy.

**Klíčová slova:** pavouci, *Pardosa lugubris*, *Phylloneta impressa*, pesticidy, insekticidy, neonikotinoidy, subletální účinky, mortalita, lokomoce.

## Abstract

The purpose for using pesticides is to kill organisms that cause damage (so-called pests) on various crops and thus prevent possible crop losses. Their side effect is a negative impact on non-target organisms.

The presented diploma thesis is focused on the effect of neonicotinoids on invertebrates particularly on spiders. Its main goal was to document their influence on behavioral parameters influencing dispersal abilities such as locomotion and tendency to spread by wind (so-called ballooning). The diploma thesis compares the influence of neonicotinoids on model species, *Pardosa lugubris* (Walckenaer, 1802) and *Phylloneta impressa* (L. Koch, 1881) with different modes of prey hunting and compares the influence on adult and nymphal stages. Pesticides Actara<sup>®</sup> 25 WG, Biscaya<sup>®</sup> 240 OD, Confidor<sup>®</sup> 200 OD and Mospilan<sup>®</sup> 20 SP were applied to the spiders under laboratory conditions and their effect was tested at different concentrations and different methods of application.

The biggest impact on spiders had Confidor. It clearly had the most significant negative effect on mobility and a tendency to spider wind propagation. The lethal effects were caused by neonicotinoids in nymphal individuals *Pardosa lugubris*, especially Confidor (even 100% mortality for tarsal application). During an experiment studying the effect on locomotion in adults of *Pardosa lugubris* it was found that the paralysis caused by neonicotinoids disappeared after 24 hours.

**Keywords:** spiders, *Pardosa lugubris*, *Phylloneta impressa*, pesticides, insecticides, neonicotinoids, sublethal effects, mortality, locomotion.

## OBSAH

SEZNAM ZKRATEK .....	2
1 ÚVOD .....	3
2 LITERÁRNÍ PŘEHLED .....	6
2.1 HISTORIE VYUŽITÍ A KLASIFIKACE PESTICIDŮ .....	6
2.2 NEONIKOTINOIDY .....	9
2.3 (NEGATIVNÍ) VLIVY PESTICIDŮ .....	10
2.4 TESTOVANÉ PŘÍPRAVKY .....	15
2.4.1 ACTARA® 25 WG .....	15
2.4.2 BISCAYA® 240 OD .....	16
2.4.3 CONFIDOR® 200 OD .....	17
2.4.4 MOSPILAN® 20 SP .....	18
3 CÍLE A HYPOTÉZY .....	19
4 MATERIÁL A METODIKA .....	20
4.1 SBĚR A ULOŽENÍ MATERIÁLU .....	20
4.2 DRUHY PAVOUKŮ A LOKALITY .....	21
4.2.1 SLÍDÁK HAJNÍ – <i>PARDOSA LUGUBRIS</i> (WALCKENAER, 1802) .....	21
4.2.2 SNOVAČKA PEČUJÍCÍ – <i>PHYLLONETA IMPRESSA</i> (L. KOCH, 1881) .....	22
4.3 KONCENTRACE A APLIKACE PESTICIDŮ .....	24
4.4 POPIS EXPERIMENTŮ .....	26
4.4.1 PARAMETRY LOKOMOCE .....	27
4.4.2 TENDENCE K ŠÍŘENÍ POMOCÍ VĚTRU .....	31
4.5 STATISTICKÉ ZPRACOVÁNÍ DAT .....	32
5 VÝSLEDKY .....	35
5.1 PARAMETRY LOKOMOCE .....	35
5.1.1 MAXIMÁLNÍ RYCHLOST .....	35
5.1.2 VZDÁLENOST .....	45
5.2 TENDENCE K ŠÍŘENÍ POMOCÍ VĚTRU .....	55
5.3 MORTALITA .....	57
5.3.1 <i>PARDOSA LUGUBRIS</i> (ADULTNÍ JEDINCI) .....	57
5.3.2 <i>PARDOSA LUGUBRIS</i> (NYMFÁLNÍ JEDINCI) .....	59
5.3.3 <i>PHYLLONETA IMPRESSA</i> (NYMFÁLNÍ JEDINCI) .....	61
6 DISKUSE .....	63
6.1 PARAMETRY LOKOMOCE .....	63
6.2 TENDENCE K ŠÍŘENÍ POMOCÍ VĚTRU .....	73
6.3 MORTALITA .....	76
7 ZÁVĚR .....	79
8 LITERATURA .....	81
9 PŘÍLOHY .....	I

## **SEZNAM ZKRATEK**

**A** – adultní (dospělý) jedinec

**ACT** – Actara<sup>®</sup> 25 WG

**BIS** – Biscaya<sup>®</sup> 240 OD

**CON** – Confidor<sup>®</sup> 200 OD

**DDT** – dichlordifenytrichlorethan

**DDVP** – dichlorvos

**DV** – destilovaná voda (kontrola, referenční test)

**EFSA** – Evropský úřad pro bezpečnost potravin

**ECHA** – Evropská agentura pro chemické látky

**EK** – Evropská komise

**EPA** – Agentura pro ochranu životního prostředí USA

**EU** – Evropská unie

**EUR-Lex** – Úřad pro publikace Evropské unie

**HCB** – hexachlorbenzen, perchlorbenzen

**HCH** – hexachlorcyklohexan, lindan

**MN** – minimální koncentrace

**MOS** – Mospilan<sup>®</sup> 20 SP

**MX** – maximální koncentrace

**N** – nymfální (nedospělý) jedinec

**N/A** – not available/not applicable

**nAChR(s)** – nikotinový acetylcholinový receptor(y)

**SE** – standardní chyba („standard error“)

**STDEVA** – směrodatná odchylka

**TAR** – tarzálně, tarzální aplikace

**TOP** – topikálně, topikální aplikace

**VURV, v. v. i.** – Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i. v Praze

# 1 ÚVOD

Pesticidy jsou velice rozmanitou skupinou látek (Kubátová 2018). Jedná se o látky, které jsou určeny k tomu chránit rostliny před škůdci (Linhart 2019). Pesticidy jsou úmyslně aplikovány do životního prostředí za účelem zabránit, odradit, regulovat, zabíjet hmyzí populace, plevely, hlodavce, houby nebo další škůdce. Pojem škůdce je možné široce definovat jako rostliny nebo zvířata, která ohrožují naše potraviny, zdraví a/nebo pohodlí (Mahmood et al. 2016). Název těchto látek – pesticid je odvozen ze 2 latinských slov, a to: *pestis* (mor, infekční nemoc, zkáza) a *occidere* (zabít). Jejich uplatnění je velice široké (Kubátová 2018). Po celém světě jsou tyto látky často používány, a to především v zemědělství (Šelešovská et al. 2018), kde se převážná část pesticidních látek používá jako přípravek k ochraně rostlin (Cremllyn 1978), tj. jak k ochraně zemědělských plodin v polních kulturách, tak i k ochraně sklizené úrody (Kubátová 2018). Další využití pesticidů je ve skladech, v lesnictví, ve veterinářství, v zdravotnictví a v různých jiných průmyslových odvětvích (Nikonorow et al. 1983). Pesticidy jsou například důležité z hlediska ochrany veřejného zdraví, zde se používají k dezinfekci a hubení přenašečů infekčních nemocí (jako např. malárie, žluté horečky) (Kubátová 2018).

Pesticidní látky pomáhají k uchovávání výnosů ze zemědělství a ze své podstaty se jedná o látky toxického charakteru (Panáček a Balzerová 2013). Navzdory tomu kvůli zvyšování výnosů plodin došlo za posledních 40 let k vysokému nárůstu v používání pesticidních látek (Riah et al. 2014) a jejich světová produkce v současné chvíli přesahuje 2 miliony tun ročně (Panáček a Balzerová 2013). I přes jejich značnou toxicitu a známý možný negativní vliv, jsou tyto látky hojně využívány zejména v rozvojových zemích (Salameh et al. 2004). V Evropě jsou hladiny pesticidních látek sledované a poměrně nízké, protože jejich rezidua mohou být součástí produktů v potravinářství (Linhart 2019). V rostlinné výrobě jsou nicméně pesticidy stále uplatňovány, a je o nich známo, že mohou za velké environmentální problémy, a to i v Evropě (Riah et al. 2014). V životním prostředí se totiž tyto chemické látky uvolňují, ač neúmyslně, ale nepříznivě ovlivňují nejen naše zdraví, ale i necílové živočichy, kteří se volně vyskytují v přírodě (Laetz et al. 2009). Současně pesticidy představují vážný rizikový faktor nejen pro životní prostředí člověka, ale i pro přírodní ekosystémy (Paulov 1984). Nadměrné používání pesticidů může vést ke zničení biodiverzity (Mahmood et al. 2016). Ideální by tak bylo, pokud by pesticidní látky byly vysoce specifické a měly by vliv pouze na cílovou skupinu organismů (Kubátová 2018).



Pesticidy mají mnohdy nevratné dopady na životní prostředí. Pro pochopení jejich vlivů je důležité pochopit celý koloběh aplikovaného pesticidu. V případě použití pesticidního přípravku například na zemědělskou půdu dochází nejen k ovlivnění živočichů, kteří zde žijí, ale i k rozkladu těchto látek, k jejich absorpci v půdě a možnému znečištění podzemních vod, popřípadě splavením těchto látek přívalovými dešti do povrchových vod (např. do potoků, rybníků) atd. V konečném důsledku se mohou tyto látky dostat i do organismů větších živočichů, a dokonce mohou ohrozit i zdraví lidí (Hashimi et al. 2020). Ohledně ochrany biodiverzity zde však nastává problém s používáním pesticidů, a to konkrétně o jejich vedlejších, ač nechtěných účincích na prospěšné druhy, jako jsou například pavouci, ploštice, brouci a další (Boháč et al. 2007).

Z tohoto důvodu se v předložené práci autorka zaměřuje na dokumentaci vlivů konkrétních insekticidů (neonikotinoidů) na 2 modelové druhy pavouků. Pavouci jsou v přírodě nejpočetnější a druhově nejbohatší skupinou přirozených nepřátel škůdců. Obývají všechny agroekosystémy a v rámci nich jsou pavouci vystaveni různým účinkům způsobených aplikacemi pesticidů (Pekár 2012). Jedná se o skupinu živočichů, kterou můžeme nalézt téměř kdekoliv. Obývají například pole, husté lesy, lidská obydlí, opuštěné budovy, dále jsou pod kameny, pod kmeny stromů či na vegetaci (Tikader 1987). Bývají nejhojnějšími a nejdiverzifikovanějšími přirozenými nepřáteli, kteří se podílejí na redukci škůdců (Pekár 2013). Role pavouků je regulovat množství hmyzu, což je především důležité v agrocenózách, kde jejich kořisti jsou škůdci plodin (Wilczek 2017). Přestože pavouci mohou využívat různé typy loveckých strategií, většinou je to, buď lov pomocí sítí, nebo přímý lov. Převážná část pavouků ve skutečnosti nemá potravní specializaci, díky tomu mohou regulovat širokou škálu kořisti. Jedinec je navíc schopen zabít více kořisti, než může sám zkonzumovat a tato skutečnost je velmi prospěšná právě v rámci regulace různých škůdců. Důvodem pro nadměrné zabíjení, je časový odstup mezi lovem a konzumací své oběti: v průběhu čekání na paralýzu a rozklad ulovené kořisti pavouci neztrácejí sklon k dalšímu lovení (Kůrka et al. 2015).

Účelem této práce je zjistit dopady konkrétních pesticidů (neonikotinoidů) na migrační potenciál 2 modelových druhů pavouků, kteří představují přirozené predátory v agroekosystémech a zaznamenat případné reakce pavouků po kontaktu s testovanými látkami. Autorka se v práci zaměřuje především na subletální účinky (tzn. stav, kdy je jedinec schopný přežít aplikaci pesticidu), ale současně také bere na vědomí letální účinky

(tzn. při kontaktu s látkou dochází k usmrcení daného subjektu). Cílem testů je sledování účinků použitých látek na migrační schopnosti konkrétních druhů pavouků, tedy na ty, které pavouci používají k přemístění z různých míst a tím jsou lokomoce a tendence k šíření pomocí větru (tzv. ballooning). Nejen pavouci, ale i ostatní živočichové mohou přijít v přírodě ke kontaktu s pesticidy různým způsobem. Když dochází k postřikům pesticidů (např. zemědělská půda, ovocné sady a jiné), může dojít například k přímému postřiku na živočicha, což může vést k pozření aplikované látky živočichem při „čištění“, případně může dojít k pozření již ošetřeného živočicha (pavouk x hmyz). Další možnost kontaktu může být v případě pohybu živočicha na ošetřené lokalitě či se zbytky (rezidui) látky. V naší studii jsou pesticidy (neonikotinoidy) aplikovány na pavouky topikálním (přímý postřik látek na dorzální část těla pavouků) a tarzálním způsobem (ošetřený povrch, na kterém je umožněn pohyb pavoukům) a je tak porovnán možný rozdílný vliv ve způsobu aplikace testovaných pesticidů.

## 2 LITERÁRNÍ PŘEHLED

### 2.1 HISTORIE VYUŽITÍ A KLASIFIKACE PESTICIDŮ

Již od období starověku byly lidmi používány látky za účelem hubení škůdců. Původními využívanými látkami byly buď látky anorganické jako oxidy síry (vzniklé hořením síry), případně sloučeniny arsenu, anebo šlo o toxiny, které byly získány z tělních částí organismů, eventuálně se jednalo o různé extrakty. Až v 19. století a v 1. polovině 20. století, kdy se rozvíjela organická chemie, došlo k začátkům synteticky vyrobených pesticidů (Kubátová 2018). Původní pesticidy byly zpravidla jedovaté látky, které byly neselektivní. První herbicidní pesticidy jako chlorečnan sodný či síran měďnatý zcela hubily veškeré rostliny, tím pádem uplatnění těchto herbicidů nebylo přijatelné k efektivní ochraně užitkových rostlin před plevely. Stejně tak i insekticidní pesticidy jako kyanovodík, arseničnan olovnatý nebo pařížská zeleň. Tyto látky byly velice jedovaté a působily široce toxicky (pro hmyz i savce) (Cremlýn 1978). Již v roce 1867 byla insekticidní látka pařížská zeleň (též známá pod názvem svinibrodská zeleň) uplatňována proti mandelince bramborové *Leptinotarsa decemlineata* (Say, 1824). Používání jiných sloučenin arsenu započalo o něco později. Tyto sloučeniny byly více účinné, například arseničnan olovnatý, arseničnan vápenatý (Panáček a Balzerová 2013). Podobně je možné vyhodnotit i první fungicidní pesticidy jako síra, bordóská jícha a organortuťnaté látky, které jsou v rámci svých vlivů na houby velice málo specifické. Postupem času ale byly zjištěny o něco méně jedovaté organické chemické pesticidní látky (Cremlýn 1978).

Mezi první organické pesticidy patřily chlorované látky. Charakteristickým představitelem je dichlordifenyltrichlorethan (DDT) (Linhart 2019). V současnosti se pravděpodobně jedná o nejvíce známý insekticid, a navíc organickou sloučeninu chloru. DDT či také chlorfenotan byl zcela prvně syntetizován v roce 1874. Později, a to v roce 1939 byly zjištěny jeho insekticidní vlastnosti a od roku 1942 byl komerčně k dispozici (Kubátová 2018). Objevitelem tohoto insekticidu byl P. Müller (v roce 1939), kterému byla za tento objev udělena Nobelova cena (Pavlíková et al. 2008). Komerční výroba DDT se datuje už od 20. let 20. století, ale v dnešní době je využívání této látky po celém světě zakázáno (Komínková 2008). V rámci našeho státu byla tato látka zakázána od roku 1974. Výjimkou je ale například Afrika, kde je DDT využíváno k útlumu malárie (skoro k úplnému) a to tak, že se vyhubí její komáří přenašeči. Zejména po druhé světové válce bylo DDT velice důležité, protože hrálo podstatnou roli v boji proti celoevropsky

přemnožené mandelince bramborové *Leptinotarsa decemlineata* (Say, 1824). Důvod jeho zákazu bylo, že rezidua DDT byla objevena v orgánech savců (Pavlíková et al. 2008). DDT není vstřebatelné přes kůži, velice pomalým procesem je vstřebáváno trávicí soustavou, což je ale zrychleno pomocí tuků. Jelikož se tato látka špatně rozpouští ve vodě, ale naopak je dobře rozpustná v tucích, tak se DDT v organismu hromadí zejména v tukové tkáni (Kubátová 2018). DDT je látka, která je vysoce toxická pro hmyz, ale pro savce má pouze mírné neurotoxické účinky (Linhart 2019).

Již delší dobu se používají přírodní pesticidy (jako síra či nikotin), ale mají jen malý účinek. Kvůli nízkému účinku přírodních pesticidů, jsou výhodnější pesticidy, které jsou uměle vyrobeny. V průběhu druhé světové války započal vývoj syntetických pesticidů. V obrovském množství se tyto pesticidní látky (tedy uměle vyrobené) uplatnily v 60. až 80. letech 20. století. Poté bylo ale zjištěno, že některé z těchto pesticidů mají negativní účinky (Panáček a Balzerová 2013). Průmyslově vyráběné pesticidy jsou po chemické stránce nesourodou a rozmanitou skupinou. Z pohledu lidského zdraví se uvádějí 3 skupiny látek (Kubátová 2018):

- 1) organické sloučeniny chloru (v molekulách těchto uhlovodíků je pokaždé alespoň 1 atom chloru, například DDT, hexachlorcyklohexan (HCH), hexachlorbenzen (HCB)),
- 2) organické sloučeniny fosforu (organofosfáty, které mají ve své molekule vazbu P-O nebo P-C, například malathion, trichlorfon, dimethoat, dichlorvos (DDVP)),
- 3) karbamáty (například karbofuran, karbaryl) (Kubátová 2018).

Aplikovat pesticidní látky je možné v různých podobách, a to například ve formě poprašků, smáčitelných prášků, granulátů, suspenzí, roztoků, emulzí, aerosolů, pěn, plynů, koncentrátů, past a dalších (Nikonorow et al. 1983). Přehled skupin pesticidů, viz **Tabulka 1**. Pesticidní skupiny se značí latinským pojmenováním cílové skupiny organismů a k tomu se připojuje koncovka -icid (Kubátová 2018).

**Tabulka 1:** Přehled pesticidů dle cílové skupiny (Kubátová 2018).

Označení skupiny pesticidů	Cílová skupina
Virucidy	látky, které se používají k likvidaci virů v prostředí – na površích nebo předmětech (dezinfekční, resp. dekontaminační prostředky), nikoli uvnitř lidského nebo zvířecího těla
Baktericidy	bakterie, analogicky jako pro viry
Algicidy	řasy a sinice
Fungicidy	houby, plísně, sněti, rzi a padlí
Herbicidy	bylinné plevely a nežádoucí byliny
Muscicidy, muscocidy	mechy
Lichenicidy, lichenocidy	lišejníky
Insekticidy	různá vývojová stadia hmyzu; mohou se dále dělit podle hmyzího řádu, na který působí, např. pediculocidy proti vším
Akaricidy	roztoči sající rostlinné šťávy
Nematicidy	hlístice, hád'átka
Molluscicidy, molluskocidy	plži (slimáci, plzáci, hlemýždi)
Rodenticidy	potkani, myši, hryzci, hraboši
Arboricidy	hubení dřevnatých plevelů a nežádoucích dřevin

Insekticidy, moluskocidy, nematocidy, rodenticidy, avicidy (proti ptákům) a piscicidy (proti rybám) se řadí do skupiny nazývané se tzv. zoocidy, což jsou pesticidní látky, které mají vliv na živočichy. Dalšími skupinami pesticidů jsou herbicidy (na rostlinné škůdce) a fungicidy (proti houbám a plísním). Mezi pesticidy se dále řadí růstové regulátory (Komínková 2008). Tyto 4 základní skupiny (zoocidy, fungicidy, herbicidy a růstové regulátory) představují rozdělení pesticidů dle cílového organismu (Panáček a Balzerová 2013). Dle Cremlyna (1978) jsou fungicidy, herbicidy a insekticidy těmi nejdůležitějšími a nejrozšířenějšími skupinami.

Novějšími pesticidy jsou karbamáty, neonikotinoidy, organofosfáty a pyrethroidy, které nejsou tolik perzistentní jako výše zmíněné DDT. Tyto látky jsou pokaždé spojovány

s problémem v rámci toxicity pro jiné než cílové organismy, a to především včely a ostatní opylovače (Linhart 2019).

## 2.2 NEONIKOTINOIDY

Jedná se o nejnovější a hlavní třídu insekticidů, které mají mimořádnou účinnost a systémové působení z hlediska ochrany plodin proti bodavě-savým škůdcům. Jejich běžné názvy jsou: acetamiprid, clothianidin, dinotefuran, imidacloprid, nitenpyram, thiacloprid a thiamethoxam (Tomizawa a Casida 2005). Mezi hubené škůdce (neonikotinoidy) patří mšice, brouci například z čeledi mandelinkovití, strukturální škůdci jako jsou termiti (Hopwood et al. 2012), dále proti bodavě-savým hmyzím škůdcům jako jsou molice, křískovití (Tomizawa a Casida 2005), případně proti hmyzu živícího se rostlinnými tkáněmi jako jsou brouci, larvy některých mūr (Bass a Field 2018). Další užití neonikotinoidů je k potlačení vnějších parazitů na domácích zvířatech (psi, kočky) (Goulson 2013), včetně parazitů lidí a zvířat jako jsou štěnice, blechy (Bass a Field 2018).

V polovině 90. let bylo zaregistrováno první uplatnění těchto látek a rychle se staly dostupnými a běžně používanými látkami na farmách, v zahradách a okrasných krajinách. Jsou to uměle vyrobené (tzv. syntetické) chemické insekticidní látky (Hopwood et al. 2012), které jsou vysoce rozpustné ve vodě (Anonymus 2020a). Jak již jejich název napovídá, mají tyto látky spojitost s nikotinem (Bass a Field 2018). Neonikotinoidy mají podobnou strukturu a účinek jako nikotin. Tato sloučenina rostlinného původu se v přírodě vyskytuje volně. Před obdobím druhé světové války byl nikotin využíván jako insekticid (Hopwood et al. 2012). Různí autoři se zmiňují o neonikotinoidech jako o neurotoxických insekticidních látkách (Botías et al. 2015; Eng et al. 2019; Hussain et al. 2016; Otesbelgue et al. 2018; Pamminer et al. 2018), které působí na nervový systém hmyzu (Blacquièr et al. 2012). Silně se vážou na nikotinové acetylcholinové receptory (nACHR(s)) v centrálním nervovém systému hmyzu, což má za následek stimulaci nervových buněk, paralytický stav a smrt (Anonymus 2020a). Vzhledem k rozdílům v receptorech u obratlovců a hmyzu, mají neonikotinoidy nízkou toxicitu pro obratlovce, ale vysokou pro hmyz (Jiménez-López et al. 2020). Na základě výzkumů bylo prokázáno, že neonikotinoidy jsou až 10tisíckrát toxičtější než DDT a tím došla v květnu roku 2013 Evropská unie (EU) k omezení využívání některých těchto látek (Čermáková a Parkanová 2015). I přesto, že je dosud mnoho hmyzích druhů úspěšně regulováno neonikotinoidními látkami, jejich dlouhodobé využívání ale způsobilo, že jsou někteří škůdci (např. brouci, molice, mšice) vůči těmto látkám rezistentní (Bass a Field 2018).

Na oficiálních stránkách Agentury pro ochranu životního prostředí USA (EPA) je evidováno celkem 6 neonikotinoidních látek: acetamiprid, clothianidin, dinotefuran, imidacloprid, thiacloprid a thiamethoxam. Jakmile EPA dokončí posouzení rizik neonikotinoidních látek, bude podle potřeby usilovat o zmírnění rizika (EPA 2020). V roce 2013 po vyhodnocení dostupných informací Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA) zveřejnil stanovisko, že neonikotiny – imidacloprid, clothianidin a thiamethoxam jsou rizikové pro včely. Z opatrnosti pak Evropská komise (EK) zakázala používání těchto látek jako mořidel (Prováděcí nařízení Komise EU č. 485/2013). Foliární aplikace ale byla i nadále povolena. K zákazu používání těchto látek jako mořidel, se připojily v roce 2016 i USA. EFSA se již roky věnuje intenzivnímu výzkumu vlivu těchto látek na včely a ostatní opylovatele a došla k závěru, že jejich užití představuje riziko pro všechny druhy včel. Na jaře roku 2018 zástupci členských států EU podpořili návrh Evropské komise na úplný zákaz používání imidaclopridu, clothianidinu a thiamethoxamu ve venkovních podmínkách (Prováděcí nařízení Komise EU č. 2018/783, č. 2018/784 a č. 2018/785). Tento zákaz platí na celém území EU a tyto látky je možné používat pouze ve sklenících. Neonikotiny acetamiprid a thiacloprid jsou stále povoleny k používání, protože u těchto neonikotinoidů nedošlo k potvrzení toxikologických rizik (Kloutvorová 2018). Na stránkách Úřadu pro publikace Evropské unie (EUR-Lex) jsou uvedené veškeré předpisy a body z hlediska omezení neonikotinoidů (viz EUR-Lex 2020).

### **2.3 (NEGATIVNÍ) VLIVY PESTICIDŮ**

Dle databáze Evropské agentury pro chemické látky (ECHA) je uvedeno, kolik je povoleno biocidních přípravků, včetně typů účinných látek. Aktuálně (pro 26. listopad 2020) je tedy zaznamenáno 4 932 přípravků (ECHA 2020a) a 894 účinných látek (ECHA 2020b). Na jednu stranu jsou pesticidní látky důležité pro produktivitu plodin (regulují škůdce), ale na druhou stranu škodí našemu prostředí. Pesticidy jsou přítomné v krmivech, půdě, potravinách, rostlinách, dále například ve vodě a vzduchu. Jejich zbytky vstupují do rostlin a živočišných produktů a hromadí se u lidí a zvířat v potravním řetězci. Pesticidy se ukládají v lidských a živočišných tkáních, mohou být příčinou různých onemocnění (Hashimi et al. 2020).

Některé pesticidní látky způsobují tzv. „knock-down“ efekt (Kloutvorová et al. 2018), což je stav intoxikace, částečné paralýzy u hmyzu po kontaktu s látkou (insekticidem). Ošetřený hmyz obvykle zemře (Wickham et al. 1974). Hmyz, který je zasažen přípravkem, je neschopný létat, padá k zemi, dochází k silnému podráždění nebo

k paralýzám a omráčení, následně dochází k rychlé smrti (Kloutvorová et al. 2018). Knock-down efekt u pyrethroidů trvá pár minut, a to v porovnání s dalšími skupinami sloučenin, u kterých je působení o něco pomalejší (Wickham et al. 1974). Dojde-li vlivem pesticidů k paralýzám u pavouků, může to mít následky na jejich životní aspekty. Paralýzy mohou zapříčinit ochromení jejich pohybu, což může být pro pavouky nebezpečné. Pokud je omezena pohyblivost pavouků, bez které pavouci nedokážou žít, nemohou si aktivně vyhledat a ulovit potravu, případně se mohou pavouci stát sami snadnou kořistí pro okolní predátory (např. pro jiné pavouky). Další dopad to může mít i na produkce vláken u pavouků, které jsou pro ně nezbytné. Je-li pavoukům zabráněna schopnost vytvářet svá vlákna, nemohou si například stavět své sítě (sloužící např. k lovení), dále nemohou svá vlákna využívat při tvorbě kokonů, k přemísťovacím aktivitám, tj. ke spouštění po vláknech nebo k pasivnímu šíření za pomoci větru. Může dojít například k otupění jejich smyslů, což se může projevit u pářících aktivit, a to může mít následek na budoucí generace potomků (bez možnosti spářit se, nemůže být potomstvo) a obecně na populaci pavouků.

Ke snížení biodiverzity značně přispělo například využívání pesticidních látek, syntetických dusíkatých hnojiv, těžkých strojů (Pfiffner a Balmer 2010). Pesticidy ničí včelí kolonie, snižují populace opylovačů, navíc jejich aplikací jsou zasaženy organismy žijící v půdě, dále ptáci, divoká zvěř (Hashimi et al. 2020). V půdě pesticidy ovlivňují organismy (jako jsou mikroby, makroorganismy, počítaje žížaly), stejně tak ve vodě ovlivňují mnoho necílových organismů, a to i ryby (souhrnně viz Stanley a Preetha 2016).

Nepostradatelnými opylovači rostlin v přírodních ekosystémech, stejně tak i zemědělských plodin, jsou zejména včely (Sanchez-Bayo a Goka 2014). V průběhu, kdy včely hledají potravu, jsou často vystaveny jak k přímému kontaktu s pesticidními látkami, tak i ke kontaktu s jejich rezidui. Mezi takovéto látky zejména patří insekticidy. Všechny insekticidy jsou látky, které jsou speciálně navrženy například k zabíjení nebo odpuzování hmyzu (Belzunces et al. 2012). Pro člověka jsou včely jedním z nejdůležitějších druhů živočichů, protože jsou schopny opylovat až 78 % kvetoucích rostlin na Zemi a zhruba 70 % základních zemědělských plodin. Současným problémem je úbytek těchto bezobratlých živočichů, což je vnímáno odbornou veřejností jako obrovské nebezpečí nejen pro přírodu, ale také i pro člověka. Existuje několik důvodů poklesu včel – například onemocnění včel nebo klimatické změny. Avšak jako zásadní příčina je uváděna zemědělská produkce, která používá pesticidy (Čermáková a Parkanová 2015). Vlivem pesticidních látek může například dojít k poškození detoxikačních mechanismů a imunity



(imunitní reakce) a tím jsou včely náchylnější k parazitům (Goulson et al. 2015). Vlivem vysokého toxického účinku pesticidů dochází u včel ke zhoršení orientace, učení a paměti, což je pro přežití včelích společenstev zásadní (Čermáková a Parkanová 2015).

*„V posledních letech byla pozornost zaměřena především na skupinu neonikotinoidů, které byly zařazeny mezi látky potenciálně vysoce rizikové pro včely.“* (Kloutvorová et al. 2018). Diskutuje se, že vystavení včel neonikotinoidním látkám může vést až k selhání celých kolonií včel (Brandt et al. 2016). Neonikotinoidy jsou absorbovány do rostlin a mohou být obsaženy v pylu a nektaru. Hmyz živící se na květinách, jako jsou právě včely, konzumuje rezidua těchto látek. V některých situacích se může stát, že koncentrace reziduí dosáhnou letální úrovně. Výskyt neonikotinoidních látek v rostlinách je dlouhotrvající. Po jediné aplikaci mohou být v půdě měsíce nebo roky. V dřevinách byla objevena zřetelná množství reziduí a to až 6 let po aplikaci těchto látek (Hopwood et al. 2012). Vysoce toxické jsou neonikotinoidy pro širokou škálu bezobratlých živočichů (Morrissey et al. 2015; Pisa et al. 2015), konkrétně pro většinu členovců (Goulson 2013) a to především pro hmyz (Pisa et al. 2015). Obecně ale působí jen málo toxicky pro savce, ptáky a ryby (Tomizawa a Casida 2005). Mnozí bezobratlí živočichové plní zásadní role, což umožňuje zdravé fungování ekosystému. V oblasti účinků těchto látek na většinu bezobratlých živočichů je velká mezera ve znalostech (Pisa et al. 2015). Málo je známo o toxickém působení, a i o možných dopadech neonikotinoidních látek na necílové organismy, konkrétně na sladkovodní organismy (Beketov a Liess 2008).

U hmyzu neonikotinoidy narušují nervovou soustavu, způsobují subletální účinky – jako například omezení příjmu potravy nebo reprodukce, snížení pohyblivosti nebo i smrt (Jiménez-López et al. 2020). Kromě vlivu těchto látek na reprodukční schopnosti a schopnosti vyhledávat potravu u včel, mohou dále ovlivnit létání nejen u včel, ale i u ostatního hmyzu, včetně i opylovačů (Buszewski et al. 2019). Jejich vlivem může dojít k narušení kognitivních funkcí, což může ohrozit celou kolonii (Zhang a Nieh 2020).

Příkladem je studie Pisa et al. (2015), kteří provedli vyhodnocení jednotlivých poznatků týkající se účinků insekticidů (různých neonikotinoidů a fipronilu) na bezobratlé živočichy, včetně včely medonosné – *Apis mellifera* Linnaeus, 1758, neboť se jedná o důležitého opylovače a nejvíce zkoumaného necílového živočicha z bezobratlých. V této publikaci jsou ale rozebrány účinky těchto látek i na různé další skupiny necílových terestrických a aquatických bezobratlých živočichů. Autoři čerpali z dostupných studií, například na hmyz (brouci, čmeláci, motýli, mšy, včely), pavoukovce (roztoči),

kroužkovce (žížaly) a další. Autoři díky shrnutým poznatkům z předešlých studií od různých autorů došli k závěru, že tyto látky (neonikotinoidy, fipronil) mají obecně negativní působení na fyziologii a přežití necílových bezobratlých živočichů (a to v různých prostředích) (Pisa et al. 2015). Další studie, která přispěla svými poznatky o vlivu neonikotinoidů na včely, je studie Brandt et al. (2016), kteří dělali testy s roztoky neonikotinoidů, konkrétně thiaclopridu, imidaclopridu a clothianidinu. Jejich účinkům byly vystaveny včely (dělnice z kolonie *Apis mellifera carnica* Pollmann, 1879), přičemž zkoumali subletální účinky těchto neonikotinoidů na imunitu včel. Došli k závěru, že včely byly ovlivněny všemi zkoumanými látkami, tedy jejich imunokompetence, tím může dojít k narušení schopnosti odolnosti proti chorobám (Brandt et al. 2016).

De Lima e Silva et al. (2017) se zabývali toxicitou vlivů neonikotinoidů. Konkrétně se zaměřili na vliv těchto látek na půdní bezobratlé živočichy (jako jsou žížaly, roupice, chvostoskoci, stínky, roztoči). V jejich případě byl konkrétně testován účinek čistých pesticidních látek imidaclopridu a thiaclopridu, přičemž došli k závěru, že neonikotinoidní látky imidacloprid a thiacloprid jsou vysoce toxické pro bezobratlé živočichy žijící v půdním prostředí (De Lima e Silva et al. 2017). Vlivem neonikotinoidů na žížaly a chvostoskoky se zabývali De Lima e Silva et al. (2020), kteří testovali čisté látky a komerční formulace. Konkrétně se jednalo o čistý acetamiprid, clothianidin, imidacloprid, thiacloprid a thiamethoxam. Testovanými komerčními přípravky byly Actara® (thiamethoxam), Calypso® (thiacloprid), Confidor® (imidacloprid) a Mospilan® (acetamiprid). Testy provedli s žížalami druhu *Eisenia andrei* Bouché, 1972 a chvostoskoky druhu *Folsomia candida* Willem, 1902. Jejich výzkumem bylo zjištěno, že většina těchto použitých neonikotinoidů je toxická pro žížaly i chvostoskoky, a že jejich nízké koncentrace jsou dostačující, aby zapříčinily vyšší úmrtnost a/nebo snížení reprodukční schopnosti. Testované komerční přípravky neonikotinoidů nebyly v porovnání s čistými látkami toxičtější (De Lima e Silva et al. 2020). Beketov a Liess (2008) provedli testy s (komerčním) přípravkem Calypso®, jehož účinná látka je thiacloprid (neonikotinoid). Jejich testovanými bezobratlými živočichy byli členovci – sladkovodní hmyz a korýši. Bylo zjištěno, že tato látka může být příčinou letálních a subletálních účinků na tyto členovce, a to i při poměrně nízkých koncentracích, které ale nezpůsobí výraznou akutní mortalitu (Beketov a Liess 2008). Mohammed et al. (2018) testovali přípravek Bi Chong Lin (imidacloprid), jejichž cílem bylo provést vyhodnocení dopadu tohoto neonikotinoidu na přirozené nepřátele mšic druhu *Rhopalosiphum padi*

(Linnaeus, 1758) a *Sitobion avenae* (Fabricius, 1775). Bylo zjištěno, že oba tyto druhy mšic byly regulovány testovaným imidaclopridem účinně (k redukci mšic přispěli i jejich nepřátelé, pro které se staly z důvodu účinku pesticidu lehkou kořistí). Z výše uvedených studií jasně vyplívá, že neonikotinoidy mají přímý negativní vliv nejen na fytofágní bezobratlé, ale negativně ovlivňují i případné predátory (jako např. pavouky, slunéčka, zlatoočky) (Mohammed et al. 2018).

Vliv pesticidů (např. akaricidy, insekticidy, fungicidy, herbicidy), včetně jejich vedlejších účinků, může být na pavouky velmi značný (souhrnně viz Pekár 2012). Pesticidy ovlivňují v podstatě všechny životní projevy pavouků (Pekár 2012). Díky této analýze údajů od Pekára (2012) se ukázalo, že pavouci jsou ovlivňováni pesticidy, a to zejména akaricidy a insekticidy, především neurotoxickými látkami. Ovlivnit pavouky mohou ale i fungicidy a herbicidy. V současnosti je výzkum z hlediska ekotoxikologie zaměřen na subletální účinky na chování (jako např. lokomoce, tvorba sítí, reprodukce a další) a fyziologii pavouků. Chybí však standardizované metodiky k hodnocení subletálních účinků. Studie v terénu ukazují, že za snižování populací po aplikaci pesticidních látek ovlivňují faktory, které souvisejí s pesticidy, plodinami a i různými potravními guildami pavouků (Pekár 2012). To dokazují studie s různými pesticidy studovanými v rámci různých čeledí: Araneidae (Benamú et al. 2017; Lengwiler a Benz 1994; Samu a Vollrath 1992), Dictynidae (Pekár a Beneš 2008), Linyphiidae (Shaw et al. 2005; Tietjen a Cady 2007), Lycosidae (Evans et al. 2010; Chen et al. 2012; Michalková a Pekár 2009; Shaw et al. 2006; Tietjen a Cady 2007), Oxyopidae (Butt et al. 2019), Philodromidae (Pekár a Beneš 2008; Řezáč et al. 2010), Salticidae (Tietjen a Cady 2007), Theridiidae (Pekár a Beneš 2008; Vetter et al. 2016).

Z hlediska účinků pesticidů (konkrétně imidaclopridu, clothianidinu a fipronilu) na obratlovce se zaměřili například Gibbons et al. (2015), kteří ve své studii vytvořili přehled z jiných studií o účincích těchto látek na obratlovce, tedy na obojživelníky, plazy, ptáky, ryby a savce. Autoři zjistili, že insekticidy imidacloprid a fipronil jsou toxické pro mnoho ptáků a i pro většinu ryb. Pro malé ptáky představují rizika imidacloprid a i clothianidin a to v případě jejich využití k ošetření semen některých plodin. Požitím (dokonce jen několika) ošetřených semen těmito látkami by mohlo u ptáků (citlivých druhů) způsobit smrt nebo poškození reprodukce. Podobně tak tomu může být v rámci fipronilu, který může představovat riziko pro ryby (citlivé druhy). I přesto, že tyto 3 látky nemusí zapříčinit nutně mortalitu u dospělých obratlovců, ale intoxikace těmito látkami

může omezit jejich růst, vývoj, reprodukci. Účinky na reprodukci u savců se projevují například sníženou produkcí spermií, nepříznivě na oplodnění, nízkou hmotností potomků. U ptáků byly zjištěny například anomálie varlat, snížená úspěšnost oplodnění (Gibbons et al. 2015).

## 2.4 TESTOVANÉ PŘÍPRAVKY

V této práci byly testovány 4 komerční pesticidní přípravky: Actara<sup>®</sup> 25 WG, Biscaya<sup>®</sup> 240 OD, Confidor<sup>®</sup> 200 OD a Mospilan<sup>®</sup> 20 SP.

### 2.4.1 ACTARA<sup>®</sup> 25 WG

Actara<sup>®</sup> 25 WG je pevná látka, jejíž součástí je účinná látka thiamethoxam: 3-(2-chloro-1,3-thiazol-5-ylmethyl)-5-methyl-1,3,5-oxadiazinan-4-ylidene-N-nitroamine.

Přípravek vyrábí švýcarská společnost Syngenta Crop Protection AG. Tento přípravek je aplikován za účelem likvidace například mandelinky bramborové (v bramborách a rajčatech) a mšic (v bramborách) (Anonymus 2020b). Thiamethoxam je systémová, kontaktní pesticidní účinná látka. Po celém světě se tato látka využívá k regulaci hmyzu (Hilton et al. 2016), jako jsou škůdci například mšice, molice, trásnokřídlí, dále mandelinky bramborové, dřepčící, drátovci, stejně tak i některé druhy motýlů („lepidopteran species“). V roce 1998 došlo k uvedení thiamethoxamu na trh jako Actara<sup>®</sup> (pro ošetření listů a půdy) a jako Cruiser<sup>®</sup> (pro ošetření semen) (Maienfisch et al. 2001). K registraci thiamethoxamu došlo v roce 2001, například pro širokou řadu zeleniny, citrusů a další. Thiamethoxam je účinný proti hmyzu (konkrétně tedy savému a kousavému hmyzu), včetně například brouků, mnohonožek, mšic, stonožek, trásněnek a další (Fairbrother et al. 2014).

Garczyńska et al. (2018) provedli testy s přípravkem Actara na kroužkovce, konkrétně se jednalo o žížaly druhů *Eisenia fetida* (Savigny, 1826) a *Dendrobaena veneta* (Rosa, 1886). Zjistili, že například u žížaly druhu *Eisenia fetida* jevíl přípravek Actara pozitivní účinky (na jejich velikost, biomasu). Naopak tato látka způsobila sníženou reprodukci tohoto druhu, kdy došlo k poklesu počtu vyrobených kokonů. U žížaly druhu *Dendrobaena veneta* došlo vlivem látky (nízká dávka) ke stimulaci pouze velikosti populací dospívajících jedinců (Garczyńska et al. 2018). Farag a Gesraha (2007) se zabývali účinky různých insekticidních látek včetně přípravku Actara 25 WG na parazitoidní vosy druhu *Diaeretiella rapae* (McIntosh, 1855) a jejich hostitele – mšice *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus, 1758). U testovaných látek použili různé koncentrace.

Zjistili, že nejvyšší koncentrace přípravku Actara způsobila vysoké mortality u mšic – po 24 hodinách skoro všechny zemřely (u ostatních koncentrací byly úplné mortality po 4 až 5 dnech). Nevýhodou bylo zjištění, že použité insekticidy, tedy i Actara, byly pro testované parazitoidy škodlivé (Actara měla nejvyšší účinek na parazitoidní vosy). U přímé expozice nejvyšší koncentrace Actary bylo zjištěno, že u vos byla poměrně vysoce toxická po 24 hodinách. U nepřímé expozice byly parazitoidní vosy (9 dní po ošetření) výrazně zasaženy insekticidy (Farag a Gesraha 2007).

#### 2.4.2 BISCAYA® 240 OD

Kapalná látka, součástí tohoto pesticidního přípravku je účinná látka thiacloprid: (Z)-N-{3-[(6-chloro-3-pyridinyl)methyl]-1,3-thiazolan-2-yliden} kyanamid.

Přípravek Biscaya® 240 OD je vyráběn německou společností Bayer CropScience AG. Tento prostředek je používán například k hubení mandelinky bramborové (v bramborách), nosatců (krytonosec řepkový, čtyřzubý, šesťzubý), blýskáčka řepkového a bejlmorky kapustové, vyskytující se v řepce olejce a hořčici. Dále je přípravek využíván k hubení kyjaty hrachové (v hráchu setém) (Anonymus 2020c). Používání thiaclopridu je zaregistrováno od roku 2003 (např. na malvice). Jeho účinnost je proti různému savému hmyzu, počítaje například mšice, molice (Fairbrother et al. 2014), používá se zejména proti bodavému a kousavému hmyzu (Pang et al. 2020). Účinná látka thiacloprid existuje v přípravcích jako Biscaya, Calypso, Proteus, Sonido (CropScience 2020).

Stara et al. (2019) se zabývali vlivem látky thiaclopridu v komerční formulaci jako Calypso 480 SC. Testovali necílového živočicha, konkrétně raku druhu *Cherax destructor* Clark, 1936. Svými testy zjistili (testy akutní toxicity, chování, oxidační stres) a došli k závěru, že přípravek Calypso lze pro raky tohoto druhu považovat za mírně toxický. Vystavená látka způsobila u raků změny v chování a kromě toho se zdá, že má vliv na peroxidaci lipidů, aktivitu enzymatických látek. Pohyb raků se snižoval se zvyšující se koncentrací látky (Stara et al. 2019). Stejně tak i Jacob et al. (2019) testovali neonikotinoidy, mezi kterými byl i přípravek Calypso, který byl testován na včelách. Jednalo se o druh *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 a o druh *Scaptotrigona postica* (Latreille, 1807). V jejich případě bylo zjištěno, že všechny zkoumané neonikotinoidy, i Calypso ovlivnily chování obou druhů. Ovlivnily chování včel, konkrétně jejich mobilitu (vliv na rychlost, vzdálenost, dobu a frekvenci odpočinku, neustálou pohyblivost včel). *Apis mellifera* ve vztahu *Scaptotrigona postica* byla náchylnější na přípravky neonikotinoidů. V porovnání všech použitých neonikotinoidů měl přípravek Calypso

(thiacloprid) menší vliv na tyto včelí druhy. Neonikotinoidy by se měly používat opatrně. Jejich vysoké dávky mohou ovlivnit chování těchto opylovačů (Jacob et al. 2019).

### 2.4.3 CONFIDOR® 200 OD

Kapalná látka, ve které je účinná látka imidacloprid: (2E)-1-[(6-chlorpyridin-3-yl)methyl]-N-nitroimidazolidin-2-imin. Přípravek je vyráběn německou společností Bayer CropScience AG. Tento přípravek je využíván k likvidaci například mšice chmelové (v chmelu), mšičce révokaz (ve vinné révě) a červců (v okrasných rostlinách) (Anonymus 2020d). Celosvětově imidacloprid patří mezi jednu z nejvíce využívaných insekticidních látek (Uhl et al. 2015). V roce 1992 došlo k zaregistrování imidaclopridu, například pro brambory, zeleninu, obilniny a další. Tato látka je účinná proti půdnímu hmyzu a savému hmyzu (např. molice, mandelinka bramborová a další) (Fairbrother et al. 2014), dále se používá například proti savým škůdcům například na pšenici, včetně křískovitých, trásněnek a další (Pang et al. 2020). Účinná látka imidacloprid existuje například jako přípravek Confidor, Provado (dle studií Farag a Gesraha 2007; Jacob et al. 2019).

Farag a Gesraha (2007) zkoumali dopady různých insekticidů. Mezi testovanými látkami byl i Confidor. Provedli testy konkrétně s přípravkem Confidor 35 SC (imidacloprid) na parazitoidní vosy druhu *Diaeretiella rapae* (McIntosh, 1855) a jejich hostitele – mšice *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus, 1758). U látek použili různé koncentrace. Zjistili, že nejvyšší koncentrace přípravku Confidor způsobila vysoké mortality u mšic – po 48 hodinách skoro všechny zemřely (u ostatních koncentrací byly úplné mortality po 4 až 5 dnech). Shrnuli, že testované insekticidy, tedy i Confidor byly pro parazitoidy škodlivé. U přímé expozice nejvyšší koncentrace Confidoru bylo zjištěno, že jeho toxicita byla u vos mírná po 24 hodinách. U nepřímé expozice byly parazitoidní vosy (9 dní po ošetření) výrazně zasaženy insekticidy (Farag a Gesraha 2007). Jacob et al. (2019) provedli testy s neonikotinoidy na chování včel. Jednalo se o druh *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 a o druh *Scaptotrigona postica* (Latreille, 1807). Mezi testovanými látkami byl i přípravek Provado. Zjistili, že všechny zkoumané neonikotinoidy, tedy i Provado ovlivnily chování obou druhů včel (vliv na rychlost, vzdálenost, dobu a frekvenci odpočinku, neustálou pohyblivost). Včela *Apis mellifera* ve vztahu *Scaptotrigona postica* byla náchylnější na neonikotinoidní látky. Ve srovnání všech použitých neonikotinoidů měl přípravek Provado (imidacloprid) vysoce škodlivé účinky na oba opylovače. Tyto látky by se měly používat opatrně, protože vysoké dávky neonikotinoidů mohou ovlivňovat chování těchto včel (Jacob et al. 2019).

#### 2.4.4 MOSPILAN® 20 SP

Pevná látka, součástí tohoto přípravku je účinná látka – acetamiprid: (E)-N1-[(6-chloro-3-pyridyl)methyl]N2kyanoN1methylacetamidin. Mospilan® 20 SP je vyráběn japonskou společností Nippon Soda Co. Ltd. Tento přípravek je uplatňován například k hubení mandelinky bramborové (v bramborách), mšic a vlnatky krvavé (v jádrovinách), obaleče jablčného (na jabloni), molice skleníkové, mšic, včetně mšice bavlníkové (v okrasných rostlinách), mšic (v rajčatech, paprikách a okurkách – pouze ve skleníku), vrtule třešňové (třešeň, višně), štítenky zhoubné (peckoviny), bejlmorky makové (mák setý) a další (Anonymus 2020e). K registraci acetamipridu došlo v roce 2002 pro používání například na citrusy, bavlnu a další. Tato látka je účinná například proti mravencům, broukům, roztočům, pavoukům a další (Fairbrother et al. 2014). Dále se například široce používá k regulaci škůdců motýlů („lepidopteron pests“) a hmyzu „planthoppers“ (Pang et al. 2020). Účinná látka acetamiprid existuje například jako přípravek Mospilan (dle studií Jacob et al. 2019; Dworzańska et al. 2020).

Jacob et al. (2019) zkoumali vliv neonikotinoidů na včely. Jednalo se konkrétně o druh *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 a o druh *Scaptotrigona postica* (Latreille, 1807). Mezi zkoumanými látkami byl i přípravek Mospilan. V jejich případě bylo zjištěno, že všechny použité neonikotinoidy, včetně i Mospilanu ovlivnily chování obou včelích druhů (tedy vliv na rychlost, vzdálenost, dobu a frekvenci odpočinku, neustálou pohyblivost). Druh *Apis mellifera* ve vztahu *Scaptotrigona postica* byla náchylnější na neonikotinoidy. V porovnání všech testovaných neonikotinoidů měl Mospilan (acetamiprid) menší účinek na tyto včely. Neonikotinoidní látky by se měly aplikovat opatrně, protože jejich vysoké dávky mohou mít vliv na chování těchto včel (Jacob et al. 2019). Dworzańska et al. (2020) zkoumali vliv insekticidních látek na včely. V jejich případě se jednalo konkrétně o druh *Apis mellifera carnica* Pollmann, 1879. Mezi zkoumanými látkami byl i přípravek Mospilan. Tato novější studie poukázala na to, že Mospilan (acetamiprid) neměl žádný vliv na úmrtnost a chování těchto včel (Dworzańska et al. 2020).

### **3 CÍLE A HYPOTÉZY**

#### **Cíle:**

1. Zdokumentovat působení 4 pesticidních přípravků neonikotinoidů a jejich koncentrací na modelové druhy pavouků. Pozorovat reakce pavouků po aplikaci testovaných látek.
2. Z výsledků shrnout, který z testovaných neonikotinoidních přípravků měl největší negativní dopad na migrační schopnosti pavouků a jejich mortalitu.
3. Zjistit, zda neonikotinoidy mají krátkodobý nebo dlouhodobý účinek na pavouky (odlišný účinek po 1 hodině, respektive po 24 hodinách), případně zjistit, jestli látky mají vyšší účinnost na pavouky při topikální nebo tarzální aplikaci (rozdílnost mezi topikální nebo tarzální aplikací).

#### **Hypotézy:**

1. Parametry lokomoce – pavouci po kontaktu s pesticidními přípravky by měli konat pomalejší a méně koordinovaný pohyb.
2. Tendence k šíření pomocí větru – u ošetřených jedinců pavouků zkoumanými látkami by měla být snížena schopnost chování vedoucího k migraci za pomoci větru tzv. ballooning (lezení na vyvýšená místa, zaujmutí postavení se „na špičky“, produkování hedvábných vláken unášených větrem).



## 4 MATERIÁL A METODIKA

Uvedené latinské názvy (druhů pavouků, včetně jejich autorů) byly zkontrolovány dle online katalogu World Spider Catalog (2020), případně dle Nentwig et al. (2020a). Latinské názvy (ostatních druhů bezobratlých živočichů, včetně jejich autorů) byly kontrolovány dle Biological Library (2020).

### 4.1 SBĚR A ULOŽENÍ MATERIÁLU

Jedinci pavouků byli nejčastěji sbíráni autorkou individuálním sběrem, který byl prováděn na území České republiky v průběhu letního a podzimního období, a to v letech 2017 a 2018. Konkrétní zástupci pavouků byli nasbíráni na různých lokalitách, na polích nebo v blízkém okolí obdělávané půdy (**Tabulka 2**). Počty konkrétních jedinců použitých pro jednotlivé experimenty jsou uvedeny, buď ve výsledných tabulkách (viz kapitola Výsledky), nebo v přílohách (**Tabulky 25-30**). Aby mohl být realizován výzkum, muselo být nasbíráno několik stovek pavouků. Konkrétní experimenty byly provedeny v laboratorních podmínkách Výzkumného ústavu rostlinné výroby, v.v.i. v Praze (VURV, v. v. i.). Jedinci byli testováni v adultním a nymfálním stádiu. Determinace druhů probíhaly pomocí odborné literatury (např. Heimer a Nentwig 1991; Roberts 1995), pod odborným vedením RNDr. Milana Řezáce, Ph.D. Všechny uvedené fotografie v této diplomové práci byly pořízeny autorkou.

**Tabulka 2:** Přehled druhů pavouků s údaji o stádiu vývoje a lokalitách sběru.

Druh	Stádium	Lokalita	GPS souřadnice
<i>Pardosa lugubris</i> (Walckenaer, 1802)	adultní	Řeňče, Vodokrty	49°35'33.04"S 13°23'44.35"E
<i>Pardosa lugubris</i> (Walckenaer, 1802)	nymfální	Řeňče, Vodokrty	49°35'32.40"S 13°23'34.99"E 49°35'32.73"S 13°23'42.71"E 49°35'33.65"S 13°23'45.30"E
<i>Phylloneta impressa</i> (L. Koch, 1881)	nymfální	Praha	50°05'01.87"S 14°17'40.97"E 50°05'06.46"S 14°17'40.38"E 50°05'05.14"S 14°17'30.33"E 50°05'05.30"S 14°17'12.96"E

## 4.2 DRUHY PAVOUKŮ A LOKALITY

Konkrétní modelové druhy (*Pardosa lugubris*; čeleď Lycosidae a *Phylloneta impressa*; čeleď Theridiidae) byly vybrány z důvodu dominantního výskytu, reprezentují druhy různých potravních guild a loveckých strategií (např. studie Cardoso et al. 2011). Snovačky se řadí do guildy – „Web-builders“, „Scattered-line weavers“ a slíďáci do guildy – „Wandering spiders“, „Diurnal running spiders“ (Uetz et al. 1999).

### 4.2.1 SLÍDÁK HAJNÍ – *PARDOSA LUGUBRIS* (WALCKENAER, 1802)

Jedinci *Pardosa lugubris* (Lycosidae) mohou dorůstat 5–7 mm. Tento druh žije od nížin až do hor v lesích (Kůrka et al. 2015). Bývá nejčastěji v doubravách (Buchar a Kůrka 1998). V nižších polohách se vyskytuje v listnatých lesích a na jejich okrajích (Kůrka et al. 2015), v listové opadance (Buchar a Kůrka 1998). Jedná se o palearktického zástupce, který je v České republice velice hojný, a tudíž není ohroženým druhem (Kůrka et al. 2015). V rámci Evropy patří *Pardosa lugubris* mezi nejběžnější druh rodu *Pardosa* obývajících lesy a otevřené prostory, včetně podhorských oblastí (Nentwig et al. 2020b). Slíďákovití patří mezi aktivní lovce (Kůrka et al. 2015). Svou kořist pronásledují (Tikader 1987), případně na ni číhají. Jedná se o malé až velmi velké pavouky (Kůrka et al. 2015). Druhy, které náleží do této čeledi, jsou v některých jazycích označovány jako tzv. vlčí pavouci – v anglickém jako „wolf spiders“ (Jocqué a Alderweireldt 2005), v německém jako „Wolfspinnen“ (Jelínek 2015). Vlčí pavouci se jim říká z důvodu jejich způsobu lovu, k zachycení své kořisti nepoužívají sítě, ale loví za pohybu (Wiebes 1959), na kterou se při příležitosti vrhnou (Tikader 1987). Převážná část našich druhů slíďáků je aktivní v průběhu dne. Přesto jsou ale někteří zástupci, kteří se přes den schovávají v úkrytech (pod kameny, v různých půdních dutinách nebo v norách), ze kterých vylézají za soumraku kvůli lovení (Kůrka et al. 2015).

Slíďáci se vyskytují na povrchu, jedná se o tzv. epigeické pavouky. Ve výjimečných případech vylézají na listy (bylinných) rostlin (Kůrka et al. 2015). Většina slíďákovitých se dobře maskuje, mají kryptické zbarvení (Vink 2002). Znak, který je pro slíďáky charakterizující, je uspořádání jejich očí – tři zřetelné příčné řady (Buchar a Kůrka 1998). První řadu tvoří 4 malé oči (nachází se na čele). Následně za nimi je druhá řada, kde jsou 2 oči, které jsou největší. Třetí řada je složena ze 2 o něco menších očí. Třetí řada je vzdálenější od druhé řady. U slíďáků je unikátní jejich péče o své potomky (Kůrka et al. 2015). Charakterizovat jednotlivé druhy umožňuje epigamní chování při námluvách,

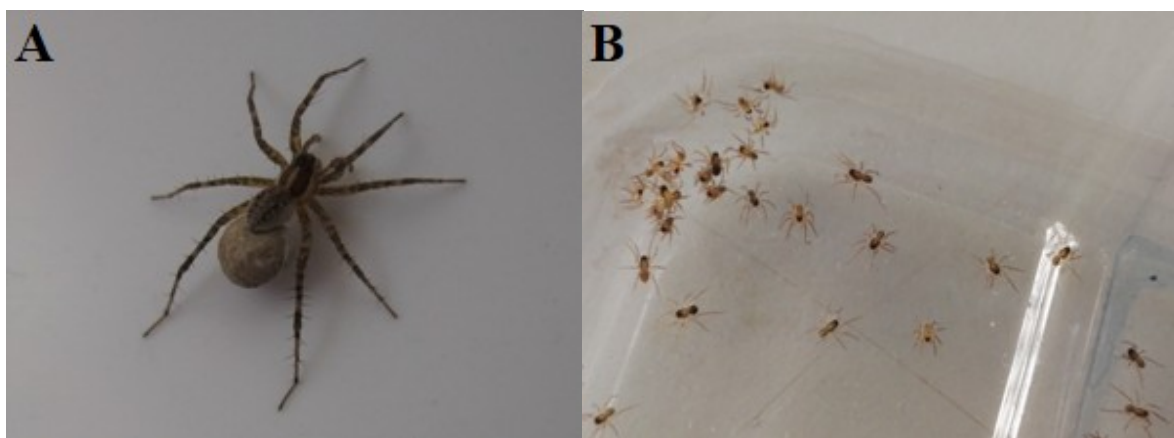
tedy soupeření samců kvůli otcovství, jako například mávání jejich makadel a prvního páru končetin (Buchar 2013). Po páření nosí samice těchto pavouků kokon, který mají připevněný ke svým snovacím bradavkám (Wiebes 1959). Jakmile jsou v kokonu vyvinuté již nymfy a jsou schopné se pohybovat, samice kokon s nymfami otevře a následně nymfy vyšplhají na její záda (Buchar 2013). Jakmile se mláďata z kokonu vylíhnou, jsou nošena několik dní na zádech samiček (do doby, než se osamostatní) (Wiebes 1959). K vytvoření kokonů slídáci používají svá vlákna. Vlákna tyto pavouci využívají i k budování hnízd, případně ke zpevnění ústí nor, pavučiny si z nich ale nevytváří (Kůrka et al. 2015).

#### 4.2.2 SNOVAČKA PEČUJÍCÍ – *PHYLLONETA IMPRESSA* (L. KOCH, 1881)

Samice druhu *Phylloneta impressa* (Theridiidae) mohou dorůst 3,5–5,5 mm a samci 2,5–5,5 mm. *Phylloneta impressa* se vyskytuje po celé Evropě, jedná se o holoarktického zástupce. V České republice je velmi hojný, není ohroženým druhem. Během srpna až září vytvářejí samice zelenomodré kokony, které opatrují ve svých pavučinových zvonovitých úkrytech. Tato útočiště jsou především na keřích nebo na silnější rostlinné vegetaci (např. pelyňky, řebříčky, třezalky), na otevřených biotopech, včetně luk, okrajů lesů, polí, sadů a podobně (Kůrka et al. 2015), dále například na ruderalních územích, v horách (téměř 2 000 m) (Nentwig et al. 2020c). Snovačkovití pavouci jsou vzhledově variabilní, u nichž je často známý pohlavní dimorfismus, který je u této čeledi velice výrazný. Stejně tak i jejich velikost těla je variabilní, dorůstají velmi malých až velkých rozměrů (Saaristo 2006).

Snovačky jsou převážně přítomné ve volné přírodě (Jelínek 2015), na vegetaci, někteří zástupci žijí v hrabance (Kůrka et al. 2015), několik těchto pavouků ale žije synantropně. Tito pavouci vytváří typické prostorové sítě, na kterých se nacházejí kapičky lepu. Dokonce i malý jedinec snovačky je schopný díky těmto lepovým kapkám ulovit kořist větší než sám pavouk (Jelínek 2015). Nejčastěji můžeme spatřit snovačky na jejich sítích, kde jsou zavěšené zády dolů (Kůrka et al. 2015). Mezi nejvíce typický znak snovaček patří řada pilovitých brv, které se nacházejí na spodní straně tarzálních článků posledního páru končetin (Buchar a Kůrka 1998). Tímto se snovačkovití pavouci odlišují od všech ostatních (Tikader 1987). S pomocí těchto končetin snovačky stírají ze svých snovacích bradavek sekret (sekret ze speciálních lepových žláz), který následně „vrhají“ na vlákna svých sítí nebo přímo na lapenou kořist (Buchar a Kůrka 1998). Mezi hlavohrudí a zadečkem se u některých druhů snovaček nachází stridulační orgán, který má podobu sklerotizovaných struktur a ty o sebe třou (Kůrka et al. 2015).

Druh pavouka, který byl testován a sbírán v adultním (dospělém) stádiu vývoje, byl slíďák hajní (*Pardosa lugubris*). Jedinci druhu *Pardosa lugubris* byli individuálně sebráni na zemědělské půdě v blízkosti a na okraji lesů v okolí vesnice Vodokrty. V případě tzv. nymfálního stádia (tzn. nedospělý jedinec) byli sbíráni jedinci slíďáka hajního (*Pardosa lugubris*), viz **Obrázek 1B**. Nymfální jedinci tohoto druhu pavouka byli sbíráni spolu se svou dospělou matkou individuálním sběrem na zemědělské půdě v blízkosti lesů. Tito nymfální jedinci byli sebráni nedlouho po svém vylihnutí z kokonu, jednalo se o chvíli, kdy vylihlá mláďata vylezla z kokonu na dorzální část zadečku samice. Sběr byl soustředěn i na dospělé samice, které měly svůj bílý kokon upevněný za snovací bradavky (**Obrázek 1A**) a čekali jsme do doby, než se mláďata z kokonu vylihnou. Samice byly pravidelně kontrolovány a krmeny drobným hmyzem, například mšicemi, popřípadě nelétavými octomilkami (*Drosophila* sp.), které byly v laboratoři chovány, viz v přílohách **Obrázek 13**.



**Obrázek 1:** A – adultní samice druhu *Pardosa* sp. nesoucí kokon, B – nymfální jedinci druhu *Pardosa lugubris*.

Dále byli sbíráni nymfální (nedospělí) jedinci snovačky pečující (*Phylloneta impressa*) (**Obrázek 2B**). Tento druh pavouka je známý nejen svým střechovitě upředěným úkrytem pro svůj kokon s vajíčky, ale také i svým nápadně namodralým kokonem (**Obrázek 2A**). Byli sbíráni individuálně spolu se svou matkou na rostlinné vegetaci nedaleko VURV, v.v.i. Matka těchto drobných nymf se starala o svá mláďata.



**Obrázek 2:** Adultní samice druhu *Phylloneta impressa* s namodralým kokonem (A) a s nymfami (B).

Do víček všech eppendorfek a epruvet s pavouky byly vpíchnuty menší otvory pro ventilaci za pomoci preparační jehly. Následně ke každému pavoukovi byla umístěna navlhčená buničina, aby nedošlo k dehydrataci pavouka. Takto zajištění jedinci pavouků byli vloženi do sáčku. Skladování uzavřených sáčků s modelovými druhy bylo v laboratorních termostatech VURV, v. v. i. (v teplotním rozmezí 5–15 °C). Aby nedošlo k poškození těl pavouků, byl pro manipulaci s nimi použit exhaustor (bylo vyloučeno používání pinzety).

### 4.3 KONCENTRACE A APLIKACE PESTICIDŮ

Ještě před zahájením postřiků neonikotinoidy, byly tyto prostředky v laboratorních podmínkách zředěny (dle návodu k použití u jednotlivých přípravků). U všech testovaných pesticidů byly připraveny koncentrace běžně užívané v zemědělství, viz **Tabulka 3**. Byly testovány 2 koncentrace – maximální (MX) a minimální doporučená (MN). V případě neonikotinoidu Confidoru byla doporučena pouze 1 koncentrace, viz **Tabulka 3**. K vážení byla použita analytická váha (výrobce Sywa, s přesností vážení 0,0001 g). Všechny testované neonikotinoidey byly ředěny 400 l/ha vody. Výpočty vypadaly následovně: pro přípravek Actara  $70/400 = 0,175 \text{ g/l}$ ;  $80/400 = 0,2 \text{ g/l}$ . Pro přípravek Biscaya  $200/400 = 0,5 \text{ ml/l}$ ;  $300/400 = 0,75 \text{ ml/l}$ . Pro přípravek Confidor  $600/400 = 1,5 \text{ ml/l}$ . Pro přípravek Mospilan  $60/400 = 0,15 \text{ g/l}$ ;  $250/400 = 0,625 \text{ g/l}$ . Látky byly rozpuštěny v 0,5 l destilované vody, tzn. výsledné hodnoty musely být děleny ještě dvěma. Výpočty tedy vyšlo: pro Actara  $0,0875 \text{ g}/0,5 \text{ l}$  destilované vody;  $0,1 \text{ g}/0,5 \text{ l}$  destilované vody, pro Bisaya  $0,25 \text{ ml}/0,5 \text{ l}$  destilované vody;  $0,375 \text{ ml}/0,5 \text{ l}$  destilované vody, pro Confidor  $0,75 \text{ ml}/0,5 \text{ l}$

destilované vody, pro Mospilan 0,075 g/0,5 l destilované vody; 0,3125 g/0,5 l destilované vody. Přípravky jsme ředili destilovanou vodou v Erlenmeyerově baňce (o objemu 500 ml). Aby došlo k dostatečnému rozpuštění látky, byla baňka řádně protřepána. Poté byly již zředěné látky rozlity do čistých umělohmotných epruvet (o objemu 50 ml) s možností uzavření. Popsané a naplněné epruvety byly vloženy do laboratorního mrazáku.

**Tabulka 3:** Přehled používaných neonikotinoidů.

Název přípravku	% účinné látky v přípravku	Účinná látka	Dávkování (přípravek)	Ředění (voda)
Actara® 25 WG	25 % (250 g/kg)	Thiamethoxam	70–80 g/ha	200–600 l/ha
Biscaya® 240 OD	23,1 % (240 g/l)	Tthiacloprid	200–300 ml/ha	200–600 l/ha
Confidor® 200 OD	19,3 % (200 g/l)	Imidacloprid	600 ml/ha	1500–2000 l/ha
Mospilan® 20 SP	20 % (200 g/kg)	Acetamiprid	60–250 g/ha	200–2000 l/ha

Aplikace jednotlivých testovaných neonikotinoidů byly realizovány za pomoci aplikační věže (Potter-Precision Laboratory Spray Tower), viz příloha **Obrázek 14, 15**. V horní části věže se nachází tryska (příloha **Obrázek 16**). Tato tryska je schopná aplikovat napipetovaná množství kapalin. Ve spodní části věže je umístěný regulátor a ukazatel tlaku. Pod různým tlakem jsou produkovány různě velké kapky aerosolu. Do čisté skleněné nádoby vedoucí do trysky aplikační věže bylo napipetováno vždy 3,5 ml testovaného přípravku (potřebovali jsme simulovat postřik 400 l/ha, tak jsme zkoušeli různé objemy, abychom dostali na filtrační papír o velikosti 5x5 cm odpovídající objem – počítali jsme s předpokladem, že 1 ml váží 1 g). Tento objem byl následně rozstříkovan pomocí tlaku 3 Pa do nekontaminovaných umělohmotných misek s jednotlivými arénami (příloha **Obrázek 17, 18**). Tyto plastové misky bylo možné pokaždé pevně usadit na vysunovatelnou plošinu, nacházející se ve spodní části aplikační věže. Průměr této vysunovatelné plošiny kruhového tvaru činil 12,5 cm (kruh o poloměru 6,25 cm), plocha tedy činila  $122,72 \text{ cm}^2 = 0,012272 \text{ m}^2$  (vzorec pro obsah kruhu =  $\pi \cdot r^2$ ).

Mezi jednotlivými aplikacemi pesticidních přípravků byla věž pokaždé propláchnuta destilovanou vodou a pečlivě vyčištěna s pomocí čisté buničiny, aby nedošlo ke kontaminaci. Po každé provedené aplikaci zkoumané látky byli testovaní jedinci pavouků vždy kontrolováni. Byl zaznamenán počet živých jedinců. Zaznamenána byla mortalita a paralýza. U adultních jedinců *Pardosa lugubris* musela být použita během aplikace plastová ochrana kolem umělohmotných misek. Toto opatření bylo nutné

z důvodu zamezení úniku pavouků v průběhu postřiků. Misky byly opakovaně používány, ale pouze pro stejný pesticid a jeho koncentraci. Pokaždé byly vyčištěny čistou a suchou buničinou (buničina byla omotána kolem dřevěné špejle) a tímto způsobem byla každá aréna v misce vyčištěna, zejména od zbytků pavoučích vláken (aby další jedinci, s kterými byly postřiky neonikotinoidů v plánu, neutíkali po vláknech z arén).

Přípravky byly aplikovány dvěma způsoby – topikálně a tarzálně:

1. topikální postřik (přímá aplikace pesticidu) – s pomocí věže byl postřik aplikován přímo na samotná těla testovaných jedinců,
2. tarzální kontakt (kontakt s chodidlem) – nejprve byly pesticidy nastříkány do prázdných misek (arén). Poté byli vpraveni zkoumaní pavouci do každé arény – došlo tudíž ke kontaktu pouze chodila (tarsus) pavouka s daným pesticidem.

Jak v případě topikálního kontaktu, tak i u tarzálního kontaktu byli pavouci ponecháni v arénách 1 hodinu. Během jednohodinového účinku každé testované látky byli jedinci pavouků pozorováni, tzn. bylo sledováno jejich chování po kontaktu. Po ošetření se často pavouci pohybovali po obvodu celé arény v plastové misce, někteří si „čistili“ končetiny ústním ústrojím. Někteří ošetření jedinci byli paralyzováni nebo mrtví. Aby postřik rychleji zaschl, byla místo plastových víček použita na každou svrchní část umělohmotných misek s arénami síťka upevněná s pomocí stahovací gumičky. Jako kontrola k pesticidům byla použita destilovaná voda.

#### 4.4 POPIS EXPERIMENTŮ

Za použití aplikační věže byly na jedince aplikovány pesticidní přípravky nebo destilovaná voda jako kontrola. Po ošetření byli jedinci pozorováni po dobu 1 hodiny, tzn. pozorování se zaměřilo na jejich reakci na aplikovanou látku. Vlivem použité látky mohly nastat u zkoumaných jedinců tyto stavy: paralýza, smrt nebo absence zjevných dopadů. Tyto výsledky byly po 1 hodině zaznamenány ke každé testované látce. Po zaznamenání stavu každého jedince bylo s přeživšími zahájeno plánované experimentální testování, viz **Tabulka 4**.

**Tabulka 4:** Přehled konkrétních experimentů a použitých modelových druhů pavouků.

Modelový druh a stupeň vývoje	Lokomoce	Tendence k šíření pomocí větru	Mortalita
<i>Pardosa lugubris</i> (A)	✓	✗	✓
<i>Pardosa lugubris</i> (N) <sup>1</sup>	✗	✗	✓
<i>Phylloneta impressa</i> (N)	✗	✓	✓

Vysvětlivky: A – adultní jedinec, N – nymfální jedinec.

Po dvacetičtyřhodinovém působení pesticidních přípravků byla opět vyhodnocena mortalita a paralýza. Mezi mortalitu po 24 hodinách byla započítána mortalita jedinců po 1 hodině od aplikace přípravků. Následně s jedinci, kteří přežili působení testovaných látek i po 24 hodinách, byly opakovány experimentální testy. Obecně bylo provedeno a vyhodnoceno několik testů na pavoucích. Na každý experiment byla vyčleněna nová skupina pavouků. Experiment tendence k šíření pomocí větru byl u jedinců *Phylloneta impressa* proveden jednou (v rámci pokusu byla vyhodnocena mortalita). U nymfálních jedinců *Pardosa lugubris* byl proveden pokus pouze v rámci mortality, a to v případě topikální aplikace dvakrát a u tarzální aplikace jednou. V případě experimentu lokomoce u adultních jedinců *Pardosa lugubris* byl experiment proveden několikrát. V případě obou aplikací (u topikální a tarzální) u destilované vody byl pokus proveden třikrát. Maximální koncentrace přípravků, včetně Confidoru, též u obou aplikací byl pokus proveden dvakrát a u minimálních koncentrací přípravků u obou aplikací jednou. Opět byla v rámci experimentu vyhodnocena mortalita. V případě mortality byl proveden ještě jedenkrát test – u obou aplikací, pouze u maximálních koncentrací látek (včetně destilované vody a Confidoru). Ke konzervaci materiálu byl použit 96% líh. Materiál je uložen ve VURV, v. v. i.

#### 4.4.1 PARAMETRY LOKOMOCE

V případě experimentu zaměřujícího se na dokumentaci pohyblivosti pavouků byly provedeny testy s adultními jedinci druhu *Pardosa lugubris*. Hlavním cílem tohoto experimentu bylo zjistit, zda testované neonikotinoidy mají vliv na pohybovou aktivitu jedinců tohoto druhu. Z natočených videí byly zanalyzovány parametry – maximální rychlost a uražená vzdálenost ošetřených jedinců. Po jednohodinovém působení

<sup>1</sup> Pavouci nebyli testováni v žádném dalším z pokusů z důvodu příliš vysokých mortalit způsobených testovanými přípravky.



pesticidních látek byli živí jedinci za pomoci exhaustoru opatrně přemístěni do již připravených umělohmotných misek s arénami, přičemž v každé plastové misce bylo 12 arén (**Obrázek 3, 4**). Sledování jedinci byli umístěni do jamek (arén) o velikosti 2,2 cm. Každý pavouk měl svou vlastní arénu. Někteří jedinci byli po ošetření testovanou látkou paralyzováni. Paralýza se projevovala křečemi v končetinách (třes), neschopností postavit se na nohy, pádem na boční stranu nebo jedinec nehybně ležel na zádech. Stejně účinky vyzoroval i Shaw et al. (2006). Z důvodu zamezení úniků jedinců byly misky uzavřeny víčkem. Každá aréna byla označena unikátním kódem (**Obrázek 3**). Pohyb byl zaznamenán pomocí kamery Panasonic WV-CP480 SDIII-Super, Dynamic (příloha **Obrázek 19**). Na natáčecí desce bylo předem označené místo pro přesné položení umělohmotných misek. Toto opatření bylo z důvodu, aby se okraje misky nedostaly kvůli vysokým stěnám mimo záběr, byla snaha arény rozložit pod kameru tak, aby jejich okraje byly vzhledem ke kameře co nejkolmější. Doba natáčení byla zvolena na 10 minut. Po desetiminutovém natáčení byli jedinci s pomocí exhaustoru vyjmuti z arén a přemístěni do již připravených, čistých a popsaných eppendorfek. Uložení jedinci v sáčku byli zavlhčeni a následně uchováni v laboratorním termostatu (o teplotě v rozmezí 10–15 °C). Po 24 hodinách byli jedinci vyndáni z termostatu a byla zaznamenána případná mortalita a paralýza jedinců. Poté bylo natáčení pohybových aktivit jedinců zopakováno. Jejich pohybové aktivity byly i po 24 hodinách zaznamenávány 10 minut. Během natáčení lokomoce se někteří jedinci pohybovali po celém prostoru arény, jiní nevyužívali celý prostor, ale jen „kroužili“ po jejím obvodu. U některých jedinců byl pozorován jen mírný pohyb, tzn. že se jedinec například jen pootočil, případně popoběhnul. Byly pozorovány i případy, kdy jedinci v arénách nevykonávali žádnou pohybovou aktivitu.



**Obrázek 3:** Ošetření jedinci druhu *Pardosa lugubris* v arénách připravení pro natáčení.

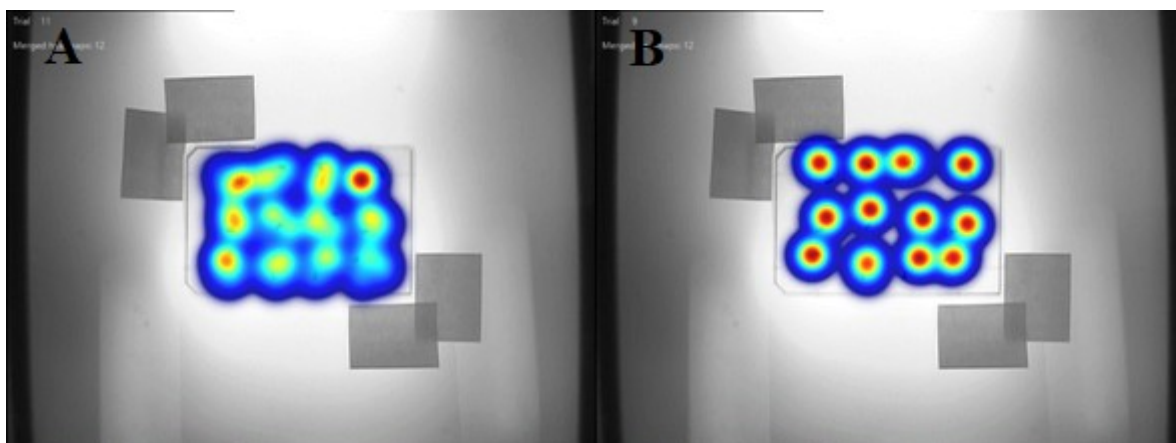


**Obrázek 4:** Jedinci druhu *Pardosa lugubris* během natáčení.

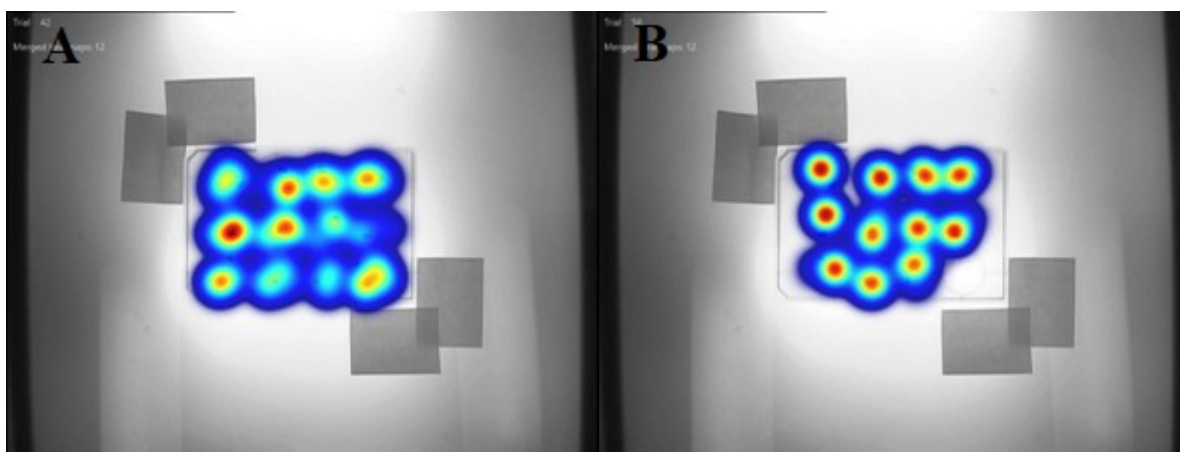
Záznamy byly vyhodnoceny pomocí systému EthoVision (EthoVision XT 14). Nastavení tohoto programu, viz **Tabulka 5**. Byla hodnocena maximální rychlost pohybu (cm/s) a uražená vzdálenost (cm). Dále byla získána vizualizace lokomoce ošetřených jedinců pavouků, tzv. „Heatmaps“ (ukázka viz **Obrázek 5A, 5B, 6A, 6B**).

**Tabulka 5:** Nastavení programu EthoVision.

Experimental settings	Number of arenas	12
	Number of subjects per arena	1
	Tracked features	Center point
	Unit of distance	cm
	Unit of time	s
Detection settings	Sample rate	25/s
	Subject color compared to background	darker
	Dark	17–255
	Frame weight	7
	Subject size	12–200 pixels
	Activity threshold	5
	Background noise filter	1



**Obrázek 5:** Vizualizace pohyblivosti ošetřených jedinců – „Heatmaps“. Každé barevné kolečko znázorňuje jedince. Čím více je kolečko zabarvené do červena, tím byl jedinec pasivnější. Naopak žlutomodré zbarvení znázorňuje aktivní jedince. V případě snímku **A** se jednalo o jedince, kteří byli ošetřeni DV, snímek **B** znázorňuje ošetřené jedince pesticidním přípravkem BIS\_MX. U obou těchto situací byla použita topikální aplikace a pohyb byl dokumentován po jednohodinovém působení testovaných látek.



**Obrázek 6:** Vizualizace lokomoce ošetřených pavouků – „Heatmaps“. Každé barevné kolečko zobrazuje pavouka. Čím více je kolečko zbarvené do červena, tím byl pavouk pasivnější. V opačném případě žlutomodré zabarvení znázorňuje aktivní pavouky. Snímek **A** znázorňuje jedince, kteří byli ošetřeni DV, snímek **B** zobrazuje ošetřené jedince přípravkem CON. V případě těchto dvou situací byla použita tarzální aplikace a pohyb byl dokumentován po jednohodinovém působení látek.

#### 4.4.2 TENDENCE K ŠÍŘENÍ POMOCÍ VĚTRU

Tento experiment byl zaměřen na testování tendence k šíření pomocí větru pavouků, tzv. ballooning. Testy byly provedeny s nymfálními jedinci druhu *Phylloneta impressa*. Cílem experimentu bylo zdokumentovat vliv testovaných pesticidů na schopnost pasivního šíření. Aparatura se skládala z ventilátoru, kterým byla simulována rychlost větru 2 m/s, optimální rychlost proudění větru pro ballooning (Pétillon 2012), při laboratorní teplotě 20–25°C. Naproti ventilátoru byla umístěna umělohmotná miska vyplněná modelovací hmotou, do které bylo vpíchnuto několik dřevěných špejlí (příloha **Obrázek 20**). Miska byla položena do výše proudu vzduchu generovaného ventilátorem. Vzdálenost mezi větrákem a miskami musela být taková, aby rychlost proudění nad miskou byla 2 m/s. Rychlost vzduchu byla kontrolována za pomoci anemometru. Po jednohodinovém působení testovaných látek byly provedeny testy s každým ošetřeným jedincem. Jedinci, u nichž byla vypořizována paralýza, nebyli v testu použiti. Jedinec byl položen na misku a následně u něho bylo zaznamenáváno jeho chování – zda byl jedinec schopný vylézt na dřevěnou špejli, na jejímž konci se následně postavil na špičky nohou a ze svých snovacích bradavek byl schopný vyprodukovat vlákno, s jehož pomocí mu byl umožněn ballooning. U každé pesticidní látky bylo zaznamenáno, zda byl nebo nebyl jedinec schopný tohoto chování. Živí jedinci byli uloženi do laboratorního termostatu (o teplotě v rozmezí 10–15 °C). Po 24 hodinách byli pavouci opět vyndáni z termostatu.

Byla vyhodnocena a zaznamenána mortalita a paralýza testovaných jedinců. Následně s jedinci, kteří přečkali účinky látek bez paralýzy i po 24 hodinách, byl tento experiment opakován, tzn. každý testovaný jedinec byl jednotlivě položen na misku a sledován. V průběhu tohoto experimentu byli jedinci neustále sledováni. Někteří jedinci po misce pobíhali nebo měli tendenci se spustit z hrany misky a utéct. Někteří nevykonávali pohyby nebo vylezli do půlky špejle, zastavili se, otočili a šplhali zpět dolů.

#### 4.5 STATISTICKÉ ZPRACOVÁNÍ DAT

Z hlediska statistického zpracování dat byl použit z-test shody populačních pravděpodobností a dvouvýběrový t-test s rovností/nerovností rozptylů. Rovnost/nerovnost rozptylů byla ověřena pomocí dvouvýběrového F-testu pro rozptyl (F-test pro shodu rozptylů). V některých případech byla ověřena normalita dat za pomoci Shapirova-Wilkova testu (Shapirův-Wilkův test), viz **Tabulka 6**. V každém testu byl vždy srovnán účinek destilované vody a konkrétního neonikotinoиду. U lokomoce byla navíc provedena detailnější analýza z hlediska porovnávání časových intervalů a aplikací neonikotinoидů. Dvouvýběrové testy (F-test, t-test) byly provedeny v programu Microsoft Excel. Z-test shody populačních pravděpodobností byl proveden za pomoci použití online kalkulačky, jejíž funkčnost byla ověřena srovnáním se statistickým programem XLSTAT. Ověření s pomocí programu XLSTAT bylo nezbytné, protože online kalkulačky volně dostupné na internetu nemusí být vždy validní zdroj. Autorka si stáhla trialovou verzi XLSTATu na 14 dnů a provedla tak ověření s kladným výsledkem. Poté již autorka používala konkrétní kalkulačku pro daný test, z důvodu vypršení licence trialové verze (plná licence je bohužel velice nákladná) a zároveň jsou kalkulačky méně složité v zadávání výpočtů.

**Tabulka 6:** Přehled provedených statistických testů u konkrétních experimentů.

Experimenty	Testy
Lokomoce	dvouvýběrový t-test s rovností/nerovností rozptylů, dvouvýběrový F-test pro rozptyl, Shapirův-Wilkův test
Tendence k šíření pomocí větru, mortalita	z-test shody populačních pravděpodobností

Dvouvýběrový F-test pro rozptyl byl proveden z důvodu zjištění, zda v následujících testech použít dvouvýběrový t-test s rovností rozptylů nebo dvouvýběrový t-test s nerovností rozptylů. Jestliže na základě dvouvýběrového F-testu pro rozptyl vyšla P-hodnota  $> 0,05$ , byl použit dvouvýběrový t-test s rovností rozptylů. V opačném případě, kdy vyšla P-hodnota  $< 0,05$ , byl využit dvouvýběrový t-test s nerovností rozptylů.

Následně použitím dvouvýběrového t-testu s rovností/nerovností rozptylů byly z dat vypočteny P-hodnoty. Tyto testy byly provedeny v programu Microsoft Excel za pomoci modulu Analýza dat. Cílem těchto testů bylo porovnat účinky mezi DV (kontrola) a danými neonikotinoidy. Byla tedy vždy porovnávána data pro DV a daný neonikotinoid (např. DV x CON), jak zvlášť pro 1 hodinu a 24 hodin, tak i pro topikální a tarzální aplikaci. S pomocí těchto testů byla dále provedena detailnější analýza s cílem zjistit, zda existuje případně rozdíl mezi oběma aplikacemi neonikotinoidů, tedy mezi topikální a tarzální aplikací. V tomto případě byla vždy srovnávána data pro konkrétní neonikotinoid u topikální a tarzální aplikace (např. CON, topikální aplikace x CON, tarzální aplikace) zvlášť pro 1 hodinu a 24 hodin. Detailnější analýza byla provedena i na základě zjištění, zda neonikotinoidy mají dlouhodobé nebo krátkodobé účinky. Z tohoto důvodu byl aplikován dvouvýběrový párový t-test na střední hodnotu a to mezi 1 hodinou a 24 hodinami. Byla vždy srovnávána data pro 1 hodinu a 24 hodin zvlášť pro topikální a tarzální aplikaci (např. CON, 1 hodina, topikální aplikace x CON, 24 hodin, topikální aplikace).

K z-testu shody populačních pravděpodobností bylo nutné mít stanovené počty jedinců, tj. v případě experimentu tendence k šíření pomocí větru byl zadáván počet létajících a celkový počet pavouků pro všechny testované látky. To samé platilo i u mortality, tzn. počet mrtvých a celkový počet pavouků pro jednotlivé konkrétní látky. Za pomoci z-testu byly vypočítány P-hodnoty vždy pro DV a neonikotinoid, tzn. u tendence k šíření pomocí větru byl zadáván počet létajících pro DV, celkový počet pavouků pro DV, počet létajících pro sledovaný neonikotinoid a celkový počet pavouků pro sledovaný neonikotinoid. Podobně tak tomu bylo i u z-testu pro mortalitu, pokaždé byl udáván počet mrtvých pro DV, celkový počet pavouků pro DV, počet mrtvých pro daný neonikotinoid a celkový počet pavouků pro daný neonikotinoid.

K vytvoření dvojrozměrných sloupcových grafů byl použit program Microsoft Excel. U experimentu lokomoce (maximální rychlost, vzdálenost) byl použit konkrétně skupinový sloupcový graf. V případě experimentů šíření pomocí větru a mortality byl použit 100% skládaný sloupcový graf. Stejně tak i v tomto programu (Microsoft Excel) za použití funkcí byly z dat vypočítány jednotlivé hodnoty, které byly pro zhotovení grafů nezbytné. U lokomoce byly s použitím vzorce vypočteny průměrné hodnoty maximálních rychlostí a vzdáleností. Následně byly s pomocí vzorce vypočítány hodnoty pro standardní chybu průměru (SE) znázorňující chybové úsečky. Všechny potřebné výpočty byly

provedeny pro veškeré testované látky (i koncentrace), včetně typů aplikací a časových intervalů. Vzorce s použitými funkcemi:

výpočet pro průměry rychlostí; vzdáleností pavouků: =PRŮMĚR(vybrané rozmezí buněk pro rychlost [cm/s]; pro vzdálenost [cm]),

výpočet pro SE rychlostí; vzdáleností pavouků: =SMODCH.VÝBĚR(vybrané rozmezí buněk pro rychlost; pro vzdálenost)/ODMOCNINA(POČET(vybrané rozmezí buněk pro rychlost; pro vzdálenost)).

U tendence k šíření pomocí větru a mortality bylo nutné z dat vypočítat procenta a hodnoty pro standardní chybu (SE) znázorňující chybové úsečky. K tomu byl použit opět program Microsoft Excel. U tendence k šíření pomocí větru se jednalo o procenta znázorňující, kolik pavouků bylo schopno létat a naopak kolik jich nebylo schopno létat. U mortality byla vypočítána procenta mrtvých a živých pavouků. V obou případech byla použita trojčlenka s přímou úměrností. Hodnoty pro SE byly vypočteny s pomocí vzorce, jak u tendence k šíření pomocí větru, tak i též u mortality. I v tomto případě byly veškeré výpočty provedeny pro všechny testované látky (i koncentrace), včetně aplikací a časových intervalů. Vzorce s použitými funkcemi:

výpočet pro % létajících; nelétajících pavouků: =100\*(počet létajících [%]; nelétajících [%])/(celkový počet pavouků),

výpočet pro % mrtvých; živých pavouků: =100\*(počet mrtvých [%]; živých [%])/(celkový počet pavouků),

výpočet pro SE létajících pavouků: = ODMOCNINA(% létajících\*(100-% létajících pavouků)/celkový počet pavouků), [%],

výpočet pro SE mrtvých pavouků: = ODMOCNINA(% mrtvých\*(100-% mrtvých pavouků)/celkový počet pavouků), [%].

## 5 VÝSLEDKY

### 5.1 PARAMETRY LOKOMOCE

#### 5.1.1 MAXIMÁLNÍ RYCHLOST

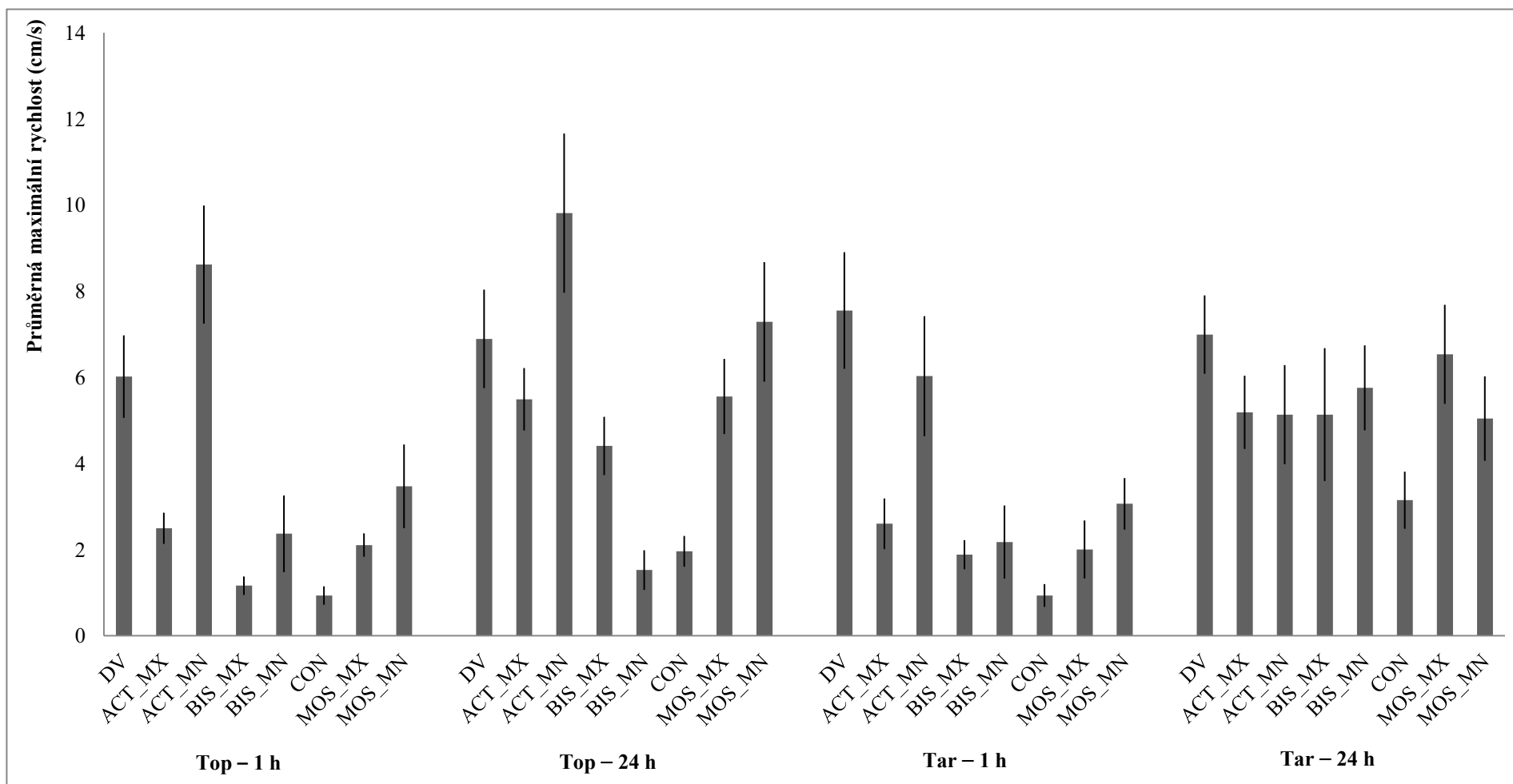
Průměrné maximální rychlosti adultních jedinců druhu *Pardosa lugubris* v kontaktu s přípravky neonikotinoidů a DV jsou zobrazeny na grafu, viz **Obrázek 7** a uvedeny v tabulce, viz příloha **Tabulka 25**. Díky dvouvýběrovému t-testu s rovností/nerovností rozptylů bylo možné porovnat účinky testovaných látek, přesněji tedy DV a pesticidního přípravku a tím zjistit, jaký neonikotinoid měl výrazný negativní dopad na slídáky. S pomocí dvouvýběrového t-testu s rovností/nerovností rozptylů se podařilo zjistit signifikantní rozdíly oproti kontrolnímu působení DV u většiny testovaných látek neonikotinoidů po 1 hodině působení a to, jak u topikální aplikace, tak i tarzální aplikace, viz **Tabulka 7, 8, 9, 10**. V případě topikální a tarzální aplikace po 1 hodině byla prokázána signifikance u přípravků ACT\_MX, BIS\_MX, BIS\_MN, CON, MOS\_MX, jen u tarzální aplikace byla prokázána signifikance ještě navíc u látky MOS\_MN. V situaci působení látek po 24 hodinách u obou typů aplikací byla zaznamenána signifikance u přípravku CON, pouze u topikální aplikace byla zaznamenána signifikance ještě navíc u látky BIS\_MN. V ostatních případech nebyl zaznamenán statisticky signifikantní rozdíl od kontroly. Na základě prezentovaných výsledků lze jistě konstatovat, že v tomto testu byl jednoznačně nejvíce negativní přípravek CON, protože jako jediný se prokázal signifikantně negativní ve všech 4 testovaných situacích (viz **Tabulka 7, 8, 9, 10**). Naopak pouze u přípravku ACT\_MN nebyl prokázán signifikantní rozdíl a to v žádné testované situaci, tzn. že tento přípravek neměl vliv na rychlost pavouků.

Z důvodu zjištění, zda aplikované neonikotinoidy mají na adultní jedince druhu *Pardosa lugubris* krátkodobé (tj. okamžité, po jednohodinovém působení), případně dlouhodobé (tj. delší, po dvacetičtyřhodinovém působení) účinky, bylo nutné provést detailnější analýzu. Díky dvouvýběrovému párovému t-testu na střední hodnotu bylo možné porovnat účinky daných pesticidních přípravků a tím zjistit, zda mají odlišný účinek po 1 hodině, respektive po 24 hodinách. Za pomoci dvouvýběrového párového t-testu na střední hodnotu se podařilo zjistit signifikantní rozdíly u testovaných látek neonikotinoidů. Na základě provedené detailnější analýzy u dosažených maximálních rychlostí bylo zjištěno, že testované neonikotinoidy působily na adultní jedince druhu *Pardosa lugubris* již po 1 hodině u obou typů aplikací. Po 1 hodině se pavouci pohybovali



pomaleji, a to konkrétně po ošetření vyššími koncentracemi neonikotinoidů – ACT\_MX, BIS\_MX, CON a MOS\_MX, výjimečně i některé nižší koncentrace, viz signifikantní rozdíly **Tabulka 11** a vyšší průměrné hodnoty po 24 hodinách ve srovnání s 1 hodinou ve všech případech, kde byla prokázána signifikance. Po 24 hodinách bylo zjištěno, že oproti 1 hodině, došlo k významnému zlepšení stavů pavouků, tzn. po 24 hodinách došlo ke „vzpamatování se“ pavouků, jak u aplikace topikálním způsobem, tak i též u aplikace tarzálním způsobem. Lze souhrnně konstatovat, že výraznější efekt přípravků neonikotinoidů byl po 1 hodině, kdy ošetření jedinci konali pomalejší pohyb, protože rychlosti pavouků byly nízké. Po 24 hodinách byly rychlosti pavouků větší, tzn. že se stavy u většiny ošetřených adultních jedinců zlepšily a to u obou aplikací. Z toho vyplývá, že přípravky neonikotinoidů mají u adultních jedinců druhu *Pardosa lugubris* krátkodobé účinky, které odeznívají postupně. V tomto případě je zřejmé, že testované přípravky neonikotinoidů měly vliv na pohybovou aktivitu adultních jedinců *Pardosa lugubris*.

Detailnější analýza byla provedena i v případě zjištění, zda existuje rozdíl mezi topikální nebo tarzální aplikací látek (vyšší účinek látek u topikální nebo u tarzální aplikace). Díky dvouvýběrovému t-testu s rovností/nerovností rozptylů bylo možné srovnat účinky konkrétních pesticidních přípravků a tím zjistit, zda je vyšší účinek u topikálního kontaktu nebo u tarzálního kontaktu. Za pomoci dvouvýběrového t-testu s rovností/nerovností rozptylů, zda je vyšší účinek u topikální nebo u tarzální aplikace, nebyly u rychlostí adultních jedinců druhu *Pardosa lugubris* ve většině případů zjištěny signifikantní rozdíly (jen 2 výjimky s protichůdným efektem – u ACT\_MN vyšší hodnota u topikální aplikace a u BIS\_MN vyšší hodnota u tarzální aplikace po 24 hodinách), viz **Tabulka 12, 13**, tzn. že není rozdíl mezi topikálním a tarzálním kontaktem.



**Obrázek 7:** Maximální rychlost lokomoce slíďáků *Pardosa lugubris* po ošetření testovanými látkami. Vysvětlivky: Osa y – průměrné hodnoty maximálních rychlostí jedinců (cm/s), osa x – testované látky s koncentracemi, chybové úsečky – standardní chyba průměru, top – topikální aplikace a tar – tarzální aplikace, 1 h a 24 h – časový interval mezi ošetřením a vyhodnocením.

**Tabulka 7:** Porovnání účinků pesticidních přípravků proti destilované vodě. Výsledky dvouvýběrového F-testu pro shodu rozptylů a následně dvouvýběrového t-testu shody středních hodnot při testu maximální rychlosti pohybu ošetřených adultních jedinců *Pardosa lugubris*. Čísla vyznačená tučně značí  $P < 0,05$ .

Pesticidní přípravek s koncentrací a aplikací	Průměr <sup>2</sup> – 1 h	Výběrový rozptyl – 1 h	Výběrová směrodatná odchylka – 1 h	Počet jedinců (N) <sup>3</sup> – 1 h	P-hodnota F-testu	Rovnost/ Nerovnost	P-hodnota t-testu
DV, top	6,01	28,45	5,33	31	–	–	–
ACT_MX – top	2,49	2,49	1,58	19	<b>&lt; 0,001</b>	nerovnost	<b>0,001</b>
DV, top	6,01	28,45	5,33	31	–	–	–
BIS_MX – top	1,16	0,97	0,98	21	<b>&lt; 0,001</b>	nerovnost	<b>&lt; 0,001</b>
DV, top	6,01	28,45	5,33	31	–	–	–
CON – top	0,93	0,92	0,96	20	<b>&lt; 0,001</b>	nerovnost	<b>&lt; 0,001</b>
DV, top	6,01	28,45	5,33	31	–	–	–
MOS_MX – top	2,10	1,47	1,21	20	<b>&lt; 0,001</b>	nerovnost	<b>&lt; 0,001</b>
DV, top	6,01	28,45	5,33	31	–	–	–
ACT_MN – top	8,62	22,58	4,75	12	0,355	rovnost	0,148
DV, top	6,01	28,45	5,33	31	–	–	–
BIS_MN – top	2,36	9,52	3,09	12	<b>0,029</b>	nerovnost	<b>0,009</b>
DV, top	6,01	28,45	5,33	31	–	–	–
MOS_MN – top	3,47	11,34	3,37	12	0,054	rovnost	0,133

Vysvětlivky: MX – maximální koncentrace, MN – minimální koncentrace, top – topikální kontakt, tar – tarzální kontakt.

<sup>2</sup> Hodnoty pro průměr, rozptyl a směrodatnou odchylku jsou v centimetrech za sekundu.

<sup>3</sup> Pavouci, kteří byli použiti v daném experimentu pro každou testovanou látku (včetně koncentrace) a situaci (občas nastala situace, že pavouk nebyl po 24 hodinách k experimentu k dispozici, např. z důvodu mortality, útěku pavouka apod.).

**Tabulka 8:** Porovnání účinků pesticidních přípravků proti destilované vodě. Výsledky dvouvýběrového F-testu pro shodu rozptylů a následně dvouvýběrového t-testu shody středních hodnot při testu maximální rychlosti pohybu ošetřených adultních jedinců *Pardosa lugubris*. Čísla vyznačená tučně značí  $P < 0,05$ .

Pesticidní přípravek s koncentrací a aplikací	Průměr <sup>4</sup> – 24 h	Výběrový rozptyl – 24 h	Výběrová směrodatná odchylka – 24 h	Počet jedinců (N) <sup>5</sup> – 24 h	P-hodnota F-testu	Rovnost/ Nerovnost	P-hodnota t-testu
DV, top	6,89	39,24	6,26	30	–	–	–
ACT_MX – top	5,49	9,47	3,08	18	<b>0,002</b>	nerovnost	0,306
DV, top	6,89	39,24	6,26	30	–	–	–
BIS_MX – top	4,40	9,15	3,03	20	<b>&lt; 0,001</b>	nerovnost	0,068
DV, top	6,89	39,24	6,26	30	–	–	–
CON – top	1,96	2,17	1,47	17	<b>&lt; 0,001</b>	nerovnost	<b>&lt; 0,001</b>
DV, top	6,89	39,24	6,26	30	–	–	–
MOS_MX – top	5,55	13,70	3,70	18	<b>0,013</b>	nerovnost	0,358
DV, top	6,89	39,24	6,26	30	–	–	–
ACT_MN – top	9,81	40,99	6,40	12	0,436	rovnost	0,183
DV, top	6,89	39,24	6,26	30	–	–	–
BIS_MN – top	1,52	2,11	1,45	10	<b>&lt; 0,001</b>	nerovnost	<b>&lt; 0,001</b>
DV, top	6,89	39,24	6,26	30	–	–	–
MOS_MN – top	7,28	23,14	4,81	12	0,179	rovnost	0,846

Vysvětlivky: MX – maximální koncentrace, MN – minimální koncentrace, top – topikální kontakt, tar – tarzální kontakt.

<sup>4</sup> Hodnoty pro průměr, rozptyl a směrodatnou odchylku jsou v centimetrech za sekundu.

<sup>5</sup> Pavouci, kteří byli použiti v daném experimentu pro každou testovanou látku (včetně koncentrace) a situaci (občas nastala situace, že pavouk nebyl po 24 hodinách k experimentu k dispozici, např. z důvodu mortality, útěku pavouka apod.).

**Tabulka 9:** Porovnání účinků pesticidních přípravků proti destilované vodě. Výsledky dvouvýběrového F-testu pro shodu rozptylů a následně dvouvýběrového t-testu shody středních hodnot při testu maximální rychlosti pohybu ošetřených adultních jedinců *Pardosa lugubris*. Čísla vyznačená tučně značí  $P < 0,05$ .

Pesticidní přípravek s koncentrací a aplikací	Průměr <sup>6</sup> – 1 h	Výběrový rozptyl – 1 h	Výběrová směrodatná odchylka – 1 h	Počet jedinců (N) <sup>7</sup> – 1 h	P-hodnota F-testu	Rovnost/ Nerovnost	P-hodnota t-testu
DV, tar	7,55	56,84	7,54	31	–	–	–
ACT_MX – tar	2,60	6,24	2,50	18	<b>&lt; 0,001</b>	nerovnost	<b>0,002</b>
DV, tar	7,55	56,84	7,54	31	–	–	–
BIS_MX – tar	1,88	2,16	1,47	19	<b>&lt; 0,001</b>	nerovnost	<b>&lt; 0,001</b>
DV, tar	7,55	56,84	7,54	31	–	–	–
CON – tar	0,93	1,26	1,12	18	<b>&lt; 0,001</b>	nerovnost	<b>&lt; 0,001</b>
DV, tar	7,55	56,84	7,54	31	–	–	–
MOS_MX – tar	2,00	8,62	2,94	19	<b>&lt; 0,001</b>	nerovnost	<b>&lt; 0,001</b>
DV, tar	7,55	56,84	7,54	31	–	–	–
ACT_MN – tar	6,02	21,36	4,62	11	0,052	rovnost	0,534
DV, tar	7,55	56,84	7,54	31	–	–	–
BIS_MN – tar	2,17	8,64	2,94	12	<b>0,001</b>	nerovnost	<b>0,002</b>
DV, tar	7,55	56,84	7,54	31	–	–	–
MOS_MN – tar	3,06	4,30	2,07	12	<b>&lt; 0,001</b>	nerovnost	<b>0,004</b>

Vysvětlivky: MX – maximální koncentrace, MN – minimální koncentrace, top – topikální kontakt, tar – tarzální kontakt.

<sup>6</sup> Hodnoty pro průměr, rozptyl a směrodatnou odchylku jsou v centimetrech za sekundu.

<sup>7</sup> Pavouci, kteří byli použiti v daném experimentu pro každou testovanou látku (včetně koncentrace) a situaci (občas nastala situace, že pavouk nebyl po 24 hodinách k experimentu k dispozici, např. z důvodu mortality, útěku pavouka apod.).

**Tabulka 10:** Porovnání účinků pesticidních přípravků proti destilované vodě. Výsledky dvouvýběrového F-testu pro shodu rozptylů a následně dvouvýběrového t-testu shody středních hodnot při testu maximální rychlosti pohybu ošetřených adultních jedinců *Pardosa lugubris*. Čísla vyznačená tučně značí  $P < 0,05$ .

Pesticidní přípravek s koncentrací a aplikací	Průměr <sup>8</sup> – 24 h	Výběrový rozptyl – 24 h	Výběrová směrodatná odchylka – 24 h	Počet jedinců (N) <sup>9</sup> – 24 h	P-hodnota F-testu	Rovnost/ Nerovnost	P-hodnota t-testu
DV, tar	6,99	25,71	5,07	31	–	–	–
ACT_MX – tar	5,18	11,56	3,40	16	0,052	rovnost	0,207
DV, tar	6,99	25,71	5,07	31	–	–	–
BIS_MX – tar	5,13	45,19	6,72	19	0,084	rovnost	0,273
DV, tar	6,99	25,71	5,07	31	–	–	–
CON – tar	3,14	7,90	2,81	18	<b>0,007</b>	nerovnost	<b>0,001</b>
DV, tar	6,99	25,71	5,07	31	–	–	–
MOS_MX – tar	6,53	25,14	5,01	19	0,493	rovnost	0,757
DV, tar	6,99	25,71	5,07	31	–	–	–
ACT_MN – tar	5,13	15,89	3,99	12	0,201	rovnost	0,262
DV, tar	6,99	25,71	5,07	31	–	–	–
BIS_MN – tar	5,75	11,68	3,42	12	0,083	rovnost	0,442
DV, tar	6,99	25,71	5,07	31	–	–	–
MOS_MN – tar	5,04	11,54	3,40	12	0,080	rovnost	0,228

Vysvětlivky: MX – maximální koncentrace, MN – minimální koncentrace, top – topikální kontakt, tar – tarzální kontakt.

<sup>8</sup> Hodnoty pro průměr, rozptyl a směrodatnou odchylku jsou v centimetrech za sekundu.

<sup>9</sup> Pavouci, kteří byli použiti v daném experimentu pro každou testovanou látku (včetně koncentrace) a situaci (občas nastala situace, že pavouk nebyl po 24 hodinách k experimentu k dispozici, např. z důvodu mortality, útěku pavouka apod.).

**Tabulka 11:** Porovnání mezi 1 hodinou a 24 hodinami u pesticidních přípravků. Výsledky dvouvýběrového t-testu shody středních hodnot při testu maximální rychlosti pohybu ošetřených adultních jedinců *Pardosa lugubris*. Čísla vyznačená tučně značí  $P < 0,05$ .

Pesticidní přípravek s koncentrací a aplikací	Průměr <sup>10</sup> – 1 h	Výběrový rozptyl – 1 h	Výběrová směrodatná odchylka – 1 h	Průměr – 24 h	Výběrový rozptyl – 24 h	Výběrová směrodatná odchylka – 24 h	Počet jedinců (N) <sup>11</sup> – 1 h, 24 h	P-hodnota t-testu
ACT_MX – top	2,55	2,56	1,60	5,49	9,47	3,08	18	<b>&lt; 0,001</b>
BIS_MX – top	1,16	1,02	1,01	4,40	9,15	3,03	20	<b>&lt; 0,001</b>
CON – top	0,89	0,90	0,95	1,96	2,17	1,47	17	<b>0,021</b>
MOS_MX – top	2,07	1,58	1,26	5,55	13,70	3,70	18	<b>&lt; 0,001</b>
ACT_MN – top	8,62	22,58	4,75	9,81	40,99	6,40	12	0,571
BIS_MN – top	2,07	10,96	3,31	1,52	2,11	1,45	10	0,633
MOS_MN – top	3,47	11,34	3,37	7,28	23,14	4,81	12	<b>0,012</b>
ACT_MX – tar	2,52	7,01	2,65	5,18	11,56	3,40	16	<b>0,004</b>
BIS_MX – tar	1,88	2,16	1,47	5,13	45,19	6,72	19	<b>0,039</b>
CON – tar	0,93	1,26	1,12	3,14	7,90	2,81	18	<b>0,006</b>
MOS_MX – tar	2,00	8,62	2,94	6,53	25,14	5,01	19	<b>0,005</b>
ACT_MN – tar	6,02	21,36	4,62	5,20	17,42	4,17	11	0,581
BIS_MN – tar	2,17	8,64	2,94	5,75	11,68	3,42	12	<b>0,015</b>
MOS_MN – tar	3,06	4,30	2,07	5,04	11,54	3,40	12	0,172

Vysvětlivky: MX – maximální koncentrace, MN – minimální koncentrace, top – topikální kontakt, tar – tarzální kontakt.

<sup>10</sup> Hodnoty pro průměr, rozptyl a směrodatnou odchylku jsou v centimetrech za sekundu.

<sup>11</sup> Pavouci, kteří byli použiti v daném experimentu pro každou testovanou látku (včetně koncentrace) a situaci (občas nastala situace, že pavouk nebyl po 24 hodinách k experimentu k dispozici, např. z důvodu mortality, útěku pavouka apod.).

**Tabulka 12:** Porovnání topikální a tarzální aplikace u pesticidních přípravků. Výsledky dvouvýběrového F-testu pro shodu rozptylů a následně dvouvýběrového t-testu shody středních hodnot při testu maximální rychlosti pohybu ošetřených adultních jedinců *Pardosa lugubris*. Čísla vyznačená tučně značí  $P < 0,05$ .

Pesticidní přípravek s koncentrací a aplikací	Průměr <sup>12</sup> – 1 h	Výběrový rozptyl – 1 h	Výběrová směrodatná odchylka – 1 h	Počet jedinců (N) <sup>13</sup> – 1 h	P-hodnota F-testu	Rovnost/ Nerovnost	P-hodnota t-testu
ACT_MX – top	2,49	2,49	1,58	19	–	–	–
ACT_MX – tar	2,60	6,24	2,50	18	<b>0,030</b>	nerovnost	0,881
BIS_MX – top	1,16	0,97	0,98	21	–	–	–
BIS_MX – tar	1,88	2,16	1,47	19	<b>0,042</b>	nerovnost	0,082
CON – top	0,93	0,92	0,96	20	–	–	–
CON – tar	0,93	1,26	1,12	18	0,253	rovnost	0,999
MOS_MX – top	2,10	1,47	1,21	20	–	–	–
MOS_MX – tar	2,00	8,62	2,94	19	<b>&lt; 0,001</b>	nerovnost	0,890
ACT_MN – top	8,62	22,58	4,75	12	–	–	–
ACT_MN – tar	6,02	21,36	4,62	11	0,469	rovnost	0,200
BIS_MN – top	2,36	9,52	3,09	12	–	–	–
BIS_MN – tar	2,17	8,64	2,94	12	0,438	rovnost	0,878
MOS_MN – top	3,47	11,34	3,37	12	–	–	–
MOS_MN – tar	3,06	4,30	2,07	12	0,062	rovnost	0,725

Vysvětlivky: MX – maximální koncentrace, MN – minimální koncentrace, top – topikální kontakt, tar – tarzální kontakt.

<sup>12</sup> Hodnoty pro průměr, rozptyl a směrodatnou odchylku jsou v centimetrech za sekundu.

<sup>13</sup> Pavouci, kteří byli použiti v daném experimentu pro každou testovanou látku (včetně koncentrace) a situaci (občas nastala situace, že pavouk nebyl po 24 hodinách k experimentu k dispozici, např. z důvodu mortality, útěku pavouka apod.).



**Tabulka 13:** Porovnání topikální a tarzální aplikace u pesticidních přípravků. Výsledky dvouvýběrového F-testu pro shodu rozptylů a následně dvouvýběrového t-testu shody středních hodnot při testu maximální rychlosti pohybu ošetřených adultních jedinců *Pardosa lugubris*. Čísla vyznačená tučně značí  $P < 0,05$ .

Pesticidní přípravek s koncentrací a aplikací	Průměr <sup>14</sup> – 24 h	Výběrový rozptyl – 24 h	Výběrová směrodatná odchylka – 24 h	Počet jedinců (N) <sup>15</sup> – 24 h	P-hodnota F-testu	Rovnost/ Nerovnost	P-hodnota t-testu
ACT_MX – top	5,49	9,47	3,08	18	–	–	–
ACT_MX – tar	5,18	11,56	3,40	16	0,343	rovnost	0,787
BIS_MX – top	4,40	9,15	3,03	20	–	–	–
BIS_MX – tar	5,13	45,19	6,72	19	<b>&lt; 0,001</b>	nerovnost	0,669
CON – top	1,96	2,17	1,47	17	–	–	–
CON – tar	3,14	7,90	2,81	18	<b>0,007</b>	nerovnost	0,127
MOS_MX – top	5,55	13,70	3,70	18	–	–	–
MOS_MX – tar	6,53	25,14	5,01	19	0,109	rovnost	0,506
ACT_MN – top	9,81	40,99	6,40	12	–	–	–
ACT_MN – tar	5,13	15,89	3,99	12	0,066	rovnost	<b>0,043</b>
BIS_MN – top	1,52	2,11	1,45	10	–	–	–
BIS_MN – tar	5,75	11,68	3,42	12	<b>0,008</b>	nerovnost	<b>0,001</b>
MOS_MN – top	7,28	23,14	4,81	12	–	–	–
MOS_MN – tar	5,04	11,54	3,40	12	0,132	rovnost	0,200

Vysvětlivky: MX – maximální koncentrace, MN – minimální koncentrace, top – topikální kontakt, tar – tarzální kontakt.

<sup>14</sup> Hodnoty pro průměr, rozptyl a směrodatnou odchylku jsou v centimetrech za sekundu.

<sup>15</sup> Pavouci, kteří byli použiti v daném experimentu pro každou testovanou látku (včetně koncentrace) a situaci (občas nastala situace, že pavouk nebyl po 24 hodinách k experimentu k dispozici, např. z důvodu mortality, útěku pavouka apod.).

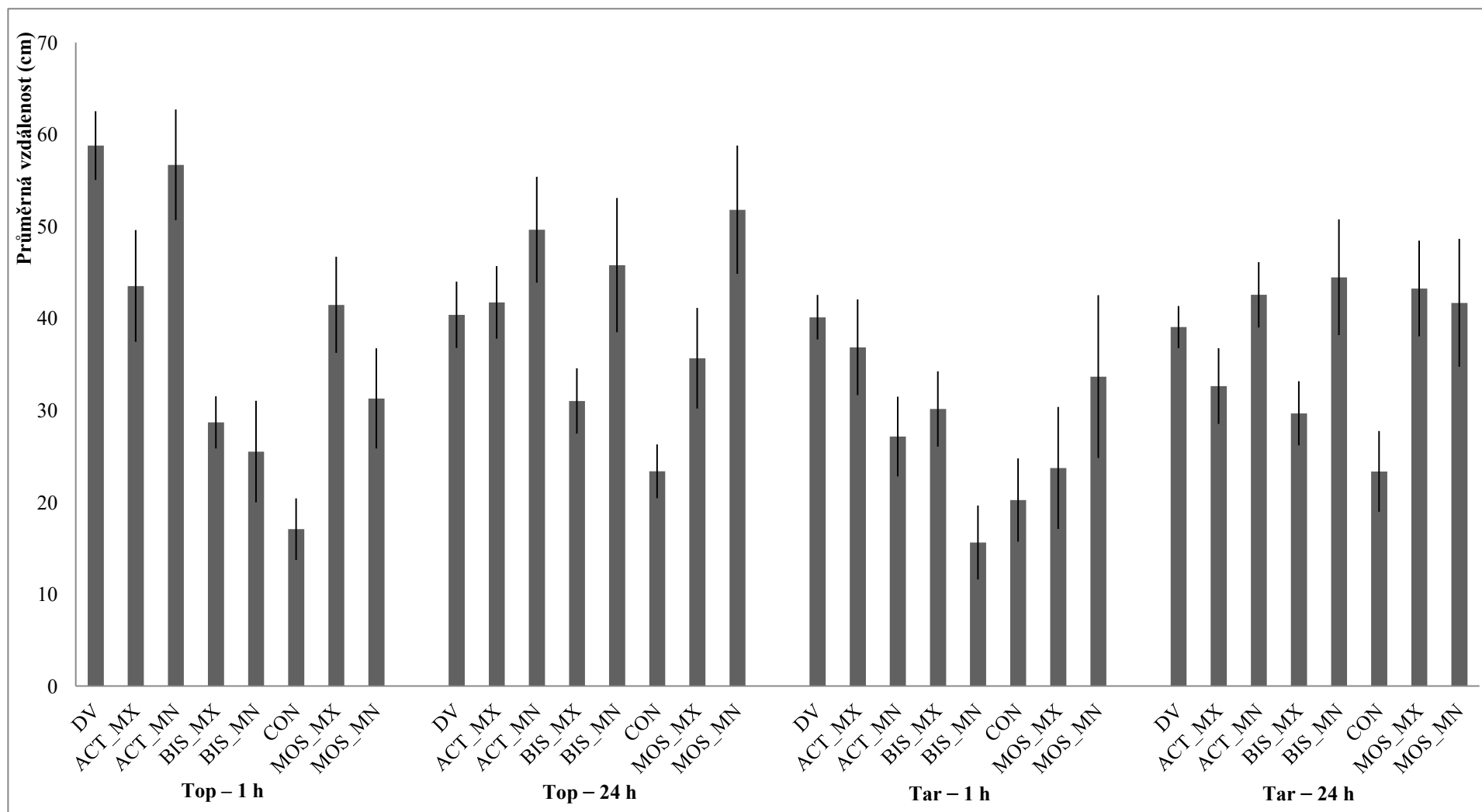
### 5.1.2 VZDÁLENOST

Průměrné uražené vzdálenosti adultních jedinců druhu *Pardosa lugubris* ošetřených neonikotinoidy a DV jsou souhrnně znázorněny na grafu, viz **Obrázek 8** a uvedeny v tabulce, viz příloha **Tabulka 26**. Díky dvouvýběrovému t-testu s rovností/nerovností rozptylů bylo možné srovnat účinky testovaných látek, přesněji tedy DV a pesticidního přípravku a tím zjistit, jaký neonikotinoid měl výrazný negativní účinek na slídáky. Opět s pomocí dvouvýběrového t-testu s rovností/nerovností rozptylů se podařilo zjistit signifikantní rozdíly oproti kontrolnímu působení DV u většiny testovaných látek neonikotinoidů po 1 hodině působení, a to u topikálního i tarzálního způsobu aplikace (**Tabulka 14, 15, 16, 17**). Při topikální a tarzální aplikaci po 1 hodině byl zaznamenán signifikantní rozdíl u přípravků BIS\_MX, BIS\_MN, CON a MOS\_MX, v tomto případě u topikální aplikace byla prokázána signifikance ještě navíc u látek ACT\_MX a MOS\_MN, u tarzální aplikace byla zjištěna signifikance ještě u látky ACT\_MN. V případě působení testovaných látek po 24 hodinách u obou typů aplikací byl zaznamenán signifikantní vliv u přípravku CON, pouze u tarzální aplikace byla prokázána signifikance ještě navíc u látky BIS\_MX. V ostatních případech nebyl zaznamenán statisticky signifikantní vliv od kontroly. Na základě prezentovaných výsledků je možné konstatovat, že v tomto testu měl jednoznačně nejvíce negativní dopad přípravek CON, protože jako jediný se prokázal signifikantně negativní ve všech 4 testovaných situacích (viz **Tabulka 14, 15, 16, 17**).

Z důvodu zjištění, zda testované neonikotinoidy mají na adultní jedince druhu *Pardosa lugubris* krátkodobé (tj. okamžité, po jednohodinovém působení), případně dlouhodobé (tj. delší, po dvacetičtyřhodinovém působení) účinky, bylo nutné provést detailnější analýzu. Díky dvouvýběrovému párovému t-testu na střední hodnotu bylo možné porovnat účinky pesticidních přípravků a tím zjistit, zda mají odlišný účinek po 1 hodině, respektive po 24 hodinách. Za pomoci dvouvýběrového párového t-test na střední hodnotu se podařilo u dosažených vzdáleností adultních jedinců druhu *Pardosa lugubris* zjistit signifikantní rozdíly jen v několika případech, přičemž v některých případech došlo ke zlepšení a v některých ke zhoršení (viz **Tabulka 18**).

Detailnější analýza byla provedena i v případě zjištění, zda existuje rozdíl mezi topikální nebo tarzální aplikací látek (vyšší účinek látek u topikální nebo u tarzální aplikace). Díky dvouvýběrovému t-testu s rovností/nerovností rozptylů bylo možné

porovnat účinky testovaných pesticidních přípravků a tím zjistit, zda je vyšší účinnost u topikálního kontaktu nebo u tarzálního kontaktu. Za pomoci dvouvýběrového t-testu s rovností/nerovností rozptylů, zda je vyšší účinek u topikální nebo u tarzální aplikace, nebyly u vzdáleností adultních jedinců druhu *Pardosa lugubris* ve výrazné většině případů zjištěny signifikantní rozdíly (až na 2 výjimky – vyšší hodnoty u ACT\_MN a MOS\_MX ve prospěch topikální aplikace po 1 hodině), viz **Tabulka 19, 20**.



**Obrázek 8:** Uražená vzdálenost slíďáků *Pardosa lugubris* po ošetření testovanými přípravky. Vysvětlivky: Osa y – průměrné hodnoty ураžených vzdáleností jedinců (cm), osa x – testované látky s koncentracemi, chybové úsečky – standardní chyba průměru, top – topikální aplikace a tar – tarzální aplikace, 1 h a 24 h – časový interval mezi ošetřením a vyhodnocením.

**Tabulka 14:** Porovnání účinků pesticidních přípravků proti destilované vodě. Výsledky dvouvýběrového F-testu pro shodu rozptylů a následně dvouvýběrového t-testu shody středních hodnot při testu vzdálenosti pohybu ošetřených adultních jedinců *Pardosa lugubris*. Čísla vyznačená tučně značí  $P < 0,05$ .

Pesticidní přípravek s koncentrací a aplikací	Průměr <sup>16</sup> – 1 h	Výběrový rozptyl – 1 h	Výběrová směrodatná odchylka – 1 h	Počet jedinců (N) <sup>17</sup> – 1 h	P-hodnota F-testu	Rovnost/ Nerovnost	P-hodnota t-testu
DV, top	58,78	434,10	20,83	31	–	–	–
ACT_MX – top	43,52	701,68	26,49	19	0,119	rovnost	<b>0,028</b>
DV, top	58,78	434,10	20,83	31	–	–	–
BIS_MX – top	28,68	169,27	13,01	21	<b>0,016</b>	nerovnost	<b>&lt; 0,001</b>
DV, top	58,78	434,10	20,83	31	–	–	–
CON – top	17,06	224,55	14,99	20	0,068	rovnost	<b>&lt; 0,001</b>
DV, top	58,78	434,10	20,83	31	–	–	–
MOS_MX – top	41,47	546,82	23,38	20	0,279	rovnost	<b>0,008</b>
DV, top	58,78	434,10	20,83	31	–	–	–
ACT_MN – top	56,69	434,66	20,85	12	0,468	rovnost	0,769
DV, top	58,78	434,10	20,83	31	–	–	–
BIS_MN – top	25,50	365,77	19,13	12	0,399	rovnost	<b>&lt; 0,001</b>
DV, top	58,78	434,10	20,83	31	–	–	–
MOS_MN – top	31,28	356,05	18,87	12	0,379	rovnost	<b>&lt; 0,001</b>

Vysvětlivky: MX – maximální koncentrace, MN – minimální koncentrace, top – topikální kontakt, tar – tarzální kontakt.

<sup>16</sup> Hodnoty pro průměr, rozptyl a směrodatnou odchylku jsou v centimetrech.

<sup>17</sup> Pavouci, kteří byli použiti v daném experimentu pro každou testovanou látku (včetně koncentrace) a situaci (občas nastala situace, že pavouk nebyl po 24 hodinách k experimentu k dispozici, např. z důvodu mortality, útěku pavouka apod.).

**Tabulka 15:** Porovnání účinků pesticidních přípravků proti destilované vodě. Výsledky dvouvýběrového F-testu pro shodu rozptylů a následně dvouvýběrového t-testu shody středních hodnot při testu vzdálenosti pohybu ošetřených adultních jedinců *Pardosa lugubris*. Čísla vyznačená tučně značí  $P < 0,05$ .

Pesticidní přípravek s koncentrací a aplikací	Průměr <sup>18</sup> – 24 h	Výběrový rozptyl – 24 h	Výběrová směrodatná odchylka – 24 h	Počet jedinců (N) <sup>19</sup> – 24 h	P-hodnota F-testu	Rovnost/ Nerovnost	P-hodnota t-testu
DV, top	40,37	390,90	19,77	30	–	–	–
ACT_MX – top	41,73	280,69	16,75	18	0,239	rovnost	0,809
DV, top	40,37	390,90	19,77	30	–	–	–
BIS_MX – top	31,01	252,54	15,89	20	0,162	rovnost	0,083
DV, top	40,37	390,90	19,77	30	–	–	–
CON – top	23,36	145,30	12,05	17	<b>0,020</b>	nerovnost	<b>&lt; 0,001</b>
DV, top	40,37	390,90	19,77	30	–	–	–
MOS_MX – top	35,65	539,07	23,22	18	0,217	rovnost	0,457
DV, top	40,37	390,90	19,77	30	–	–	–
ACT_MN – top	49,63	397,84	19,95	12	0,456	rovnost	0,179
DV, top	40,37	390,90	19,77	30	–	–	–
BIS_MN – top	45,78	533,39	23,10	10	0,249	rovnost	0,477
DV, top	40,37	390,90	19,77	30	–	–	–
MOS_MN – top	51,81	584,69	24,18	12	0,186	rovnost	0,120

Vysvětlivky: MX – maximální koncentrace, MN – minimální koncentrace, top – topikální kontakt, tar – tarzální kontakt.

<sup>18</sup> Hodnoty pro průměr, rozptyl a směrodatnou odchylku jsou v centimetrech.

<sup>19</sup> Pavouci, kteří byli použiti v daném experimentu pro každou testovanou látku (včetně koncentrace) a situaci (občas nastala situace, že pavouk nebyl po 24 hodinách k experimentu k dispozici, např. z důvodu mortality, útěku pavouka apod.).

**Tabulka 16:** Porovnání účinků pesticidních přípravků proti destilované vodě. Výsledky dvouvýběrového F-testu pro shodu rozptylů a následně dvouvýběrového t-testu shody středních hodnot při testu vzdálenosti pohybu ošetřených adultních jedinců *Pardosa lugubris*. Čísla vyznačená tučně značí  $P < 0,05$ .

Pesticidní přípravek s koncentrací a aplikací	Průměr <sup>20</sup> – 1 h	Výběrový rozptyl – 1 h	Výběrová směrodatná odchylka – 1 h	Počet jedinců (N) <sup>21</sup> – 1 h	P-hodnota F-testu	Rovnost/ Nerovnost	P-hodnota t-testu
DV, tar	40,12	182,00	13,49	31	–	–	–
ACT_MX – tar	36,84	488,28	22,10	18	<b>0,009</b>	nerovnost	0,574
DV, tar	40,12	182,00	13,49	31	–	–	–
BIS_MX – tar	30,14	318,72	17,85	19	0,085	rovnost	<b>0,030</b>
DV, tar	40,12	182,00	13,49	31	–	–	–
CON – tar	20,23	368,48	19,20	18	<b>0,044</b>	nerovnost	<b>&lt; 0,001</b>
DV, tar	40,12	182,00	13,49	31	–	–	–
MOS_MX – tar	23,72	836,36	28,92	19	<b>&lt; 0,001</b>	nerovnost	<b>0,029</b>
DV, tar	40,12	182,00	13,49	31	–	–	–
ACT_MN – tar	27,13	207,04	14,39	11	0,369	rovnost	<b>0,010</b>
DV, tar	40,12	182,00	13,49	31	–	–	–
BIS_MN – tar	15,61	194,33	13,94	12	0,418	rovnost	<b>&lt; 0,001</b>
DV, tar	40,12	182,00	13,49	31	–	–	–
MOS_MN – tar	33,66	941,65	30,69	12	<b>&lt; 0,001</b>	nerovnost	0,494

Vysvětlivky: MX – maximální koncentrace, MN – minimální koncentrace, top – topikální kontakt, tar – tarzální kontakt.

<sup>20</sup> Hodnoty pro průměr, rozptyl a směrodatnou odchylku jsou v centimetrech.

<sup>21</sup> Pavouci, kteří byli použiti v daném experimentu pro každou testovanou látku (včetně koncentrace) a situaci (občas nastala situace, že pavouk nebyl po 24 hodinách k experimentu k dispozici, např. z důvodu mortality, útěku pavouka apod.).

**Tabulka 17:** Porovnání účinků pesticidních přípravků proti destilované vodě. Výsledky dvouvýběrového F-testu pro shodu rozptylů a následně dvouvýběrového t-testu shody středních hodnot při testu vzdálenosti pohybu ošetřených adultních jedinců *Pardosa lugubris*. Čísla vyznačená tučně značí  $P < 0,05$ .

Pesticidní přípravek s koncentrací a aplikací	Průměr <sup>22</sup> – 24 h	Výběrový rozptyl – 24 h	Výběrová směrodatná odchylka – 24 h	Počet jedinců (N) <sup>23</sup> – 24 h	P-hodnota F-testu	Rovnost/ Nerovnost	P-hodnota t-testu
DV, tar	39,04	163,10	12,77	31	–	–	–
ACT_MX – tar	32,63	271,44	16,48	16	0,115	rovnost	0,147
DV, tar	39,04	163,10	12,77	31	–	–	–
BIS_MX – tar	29,66	231,21	15,21	19	0,194	rovnost	<b>0,023</b>
DV, tar	39,04	163,10	12,77	31	–	–	–
CON – tar	23,34	347,26	18,63	18	<b>0,034</b>	nerovnost	<b>0,004</b>
DV, tar	39,04	163,10	12,77	31	–	–	–
MOS_MX – tar	43,24	514,60	22,68	19	<b>0,003</b>	nerovnost	0,467
DV, tar	39,04	163,10	12,77	31	–	–	–
ACT_MN – tar	42,55	151,43	12,31	12	0,473	rovnost	0,419
DV, tar	39,04	163,10	12,77	31	–	–	–
BIS_MN – tar	44,46	474,98	21,79	12	<b>0,010</b>	nerovnost	0,432
DV, tar	39,04	163,10	12,77	31	–	–	–
MOS_MN – tar	41,68	581,21	24,11	12	<b>0,003</b>	nerovnost	0,724

Vysvětlivky: MX – maximální koncentrace, MN – minimální koncentrace, top – topikální kontakt, tar – tarzální kontakt.

<sup>22</sup> Hodnoty pro průměr, rozptyl a směrodatnou odchylku jsou v centimetrech.

<sup>23</sup> Pavouci, kteří byli použiti v daném experimentu pro každou testovanou látku (včetně koncentrace) a situaci (občas nastala situace, že pavouk nebyl po 24 hodinách k experimentu k dispozici, např. z důvodu mortality, útěku pavouka apod.).



**Tabulka 18:** Porovnání mezi 1 hodinou a 24 hodinami u pesticidních přípravků. Výsledky dvouvýběrového t-testu shody středních hodnot při testu vzdálenosti pohybu ošetřených adultních jedinců *Pardosa lugubris*. Čísla vyznačená tučně značí  $P < 0,05$ .

Pesticidní přípravek s koncentrací a aplikací	Průměr <sup>24</sup> – 1 h	Výběrový rozptyl – 1 h	Výběrová směrodatná odchylka – 1 h	Průměr – 24 h	Výběrový rozptyl – 24 h	Výběrová směrodatná odchylka – 24 h	Počet jedinců (N) <sup>25</sup> – 1 h, 24 h	P-hodnota t-testu
ACT_MX – top	44,91	704,20	26,54	41,73	280,69	16,75	18	0,554
BIS_MX – top	28,98	176,12	13,27	31,01	252,54	15,89	20	0,604
CON – top	16,61	229,11	15,14	23,36	145,30	12,05	17	0,135
MOS_MX – top	40,54	575,17	23,98	35,65	539,07	23,22	18	0,268
ACT_MN – top	56,69	434,66	20,85	49,63	397,84	19,95	12	0,142
BIS_MN – top	26,58	436,13	20,88	45,78	533,39	23,10	10	<b>0,003</b>
MOS_MN – top	31,28	356,05	18,87	51,81	584,69	24,18	12	<b>0,010</b>
ACT_MX – tar	33,46	439,16	20,96	32,63	271,44	16,48	16	0,887
BIS_MX – tar	30,14	318,72	17,85	29,66	231,21	15,21	19	0,909
CON – tar	20,23	368,48	19,20	23,34	347,26	18,63	18	0,643
MOS_MX – tar	23,72	836,36	28,92	43,24	514,60	22,68	19	<b>0,025</b>
ACT_MN – tar	27,13	207,04	14,39	41,92	161,31	12,70	11	<b>0,025</b>
BIS_MN – tar	15,61	194,33	13,94	44,46	474,98	21,79	12	<b>0,002</b>
MOS_MN – tar	33,66	941,65	30,69	41,68	581,21	24,11	12	0,175

Vysvětlivky: MX – maximální koncentrace, MN – minimální koncentrace, top – topikální kontakt, tar – tarzální kontakt.

<sup>24</sup> Hodnoty pro průměr, rozptyl a směrodatnou odchylku jsou v centimetrech.

<sup>25</sup> Pavouci, kteří byli použiti v daném experimentu pro každou testovanou látku (včetně koncentrace) a situaci (občas nastala situace, že pavouk nebyl po 24 hodinách k experimentu k dispozici, např. z důvodu mortality, útěku pavouka apod.).

**Tabulka 19:** Porovnání topikální a tarzální aplikace u pesticidních přípravků. Výsledky dvouvýběrového F-testu pro shodu rozptylů a následně dvouvýběrového t-testu shody středních hodnot při testu vzdálenosti pohybu ošetřených adultních jedinců *Pardosa lugubris*. Čísla vyznačená tučně značí  $P < 0,05$ .

Pesticidní přípravek s koncentrací a aplikací	Průměr <sup>26</sup> – 1 h	Výběrový rozptyl – 1 h	Výběrová směrodatná odchylka – 1 h	Počet jedinců (N) <sup>27</sup> – 1 h	P-hodnota F-testu	Rovnost/ Nerovnost	P- hodnota t-testu
ACT_MX – top	43,52	701,68	26,49	19	–	–	–
ACT_MX – tar	36,84	488,28	22,10	18	0,230	rovnost	0,412
BIS_MX – top	28,68	169,27	13,01	21	–	–	–
BIS_MX – tar	30,14	318,72	17,85	19	0,086	rovnost	0,768
CON – top	17,06	224,55	14,99	20	–	–	–
CON – tar	20,23	368,48	19,20	18	0,149	rovnost	0,572
MOS_MX – top	41,47	546,82	23,38	20	–	–	–
MOS_MX – tar	23,72	836,36	28,92	19	0,183	rovnost	<b>0,041</b>
ACT_MN – top	56,69	434,66	20,85	12	–	–	–
ACT_MN – tar	27,13	207,04	14,39	11	0,127	rovnost	<b>&lt; 0,001</b>
BIS_MN – top	25,50	365,77	19,13	12	–	–	–
BIS_MN – tar	15,61	194,33	13,94	12	0,155	rovnost	0,162
MOS_MN – top	31,28	356,05	18,87	12	–	–	–
MOS_MN – tar	33,66	941,65	30,69	12	0,061	rovnost	0,822

Vysvětlivky: MX – maximální koncentrace, MN – minimální koncentrace, top – topikální kontakt, tar – tarzální kontakt.

<sup>26</sup> Hodnoty pro průměr, rozptyl a směrodatnou odchylku jsou v centimetrech.

<sup>27</sup> Pavouci, kteří byli použiti v daném experimentu pro každou testovanou látku (včetně koncentrace) a situaci (občas nastala situace, že pavouk nebyl po 24 hodinách k experimentu k dispozici, např. z důvodu mortality, útěku pavouka apod.).

**Tabulka 20:** Porovnání topikální a tarzální aplikace u pesticidních přípravků. Výsledky dvouvýběrového F-testu pro shodu rozptylů a následně dvouvýběrového t-testu shody středních hodnot při testu vzdálenosti pohybu ošetřených adultních jedinců *Pardosa lugubris*. Čísla vyznačená tučně značí  $P < 0,05$ .

Pesticidní přípravek s koncentrací a aplikací	Průměr <sup>28</sup> – 24 h	Výběrový rozptyl – 24 h	Výběrová směrodatná odchylka – 24 h	Počet jedinců (N) <sup>29</sup> – 24 h	P-hodnota F-testu	Rovnost/Nerovnost	P-hodnota t-testu
ACT_MX – top	41,73	280,69	16,75	18	–	–	–
ACT_MX – tar	32,63	271,44	16,48	16	0,478	rovnost	0,121
BIS_MX – top	31,01	252,54	15,89	20	–	–	–
BIS_MX – tar	29,66	231,21	15,21	19	0,427	rovnost	0,789
CON – top	23,36	145,30	12,05	17	–	–	–
CON – tar	23,34	347,26	18,63	18	<b>0,044</b>	nerovnost	0,998
MOS_MX – top	35,65	539,07	23,22	18	–	–	–
MOS_MX – tar	43,24	514,60	22,68	19	0,460	rovnost	0,322
ACT_MN – top	49,63	397,84	19,95	12	–	–	–
ACT_MN – tar	42,55	151,43	12,31	12	0,062	rovnost	0,307
BIS_MN – top	45,78	533,39	23,10	10	–	–	–
BIS_MN – tar	44,46	474,98	21,79	12	0,421	rovnost	0,892
MOS_MN – top	51,81	584,69	24,18	12	–	–	–
MOS_MN – tar	41,68	581,21	24,11	12	0,496	rovnost	0,315

Vysvětlivky: MX – maximální koncentrace, MN – minimální koncentrace, top – topikální kontakt, tar – tarzální kontakt.

<sup>28</sup> Hodnoty pro průměr, rozptyl a směrodatnou odchylku jsou v centimetrech.

<sup>29</sup> Pavouci, kteří byli použiti v daném experimentu pro každou testovanou látku (včetně koncentrace) a situaci (občas nastala situace, že pavouk nebyl po 24 hodinách k experimentu k dispozici, např. z důvodu mortality, útěku pavouka apod.).

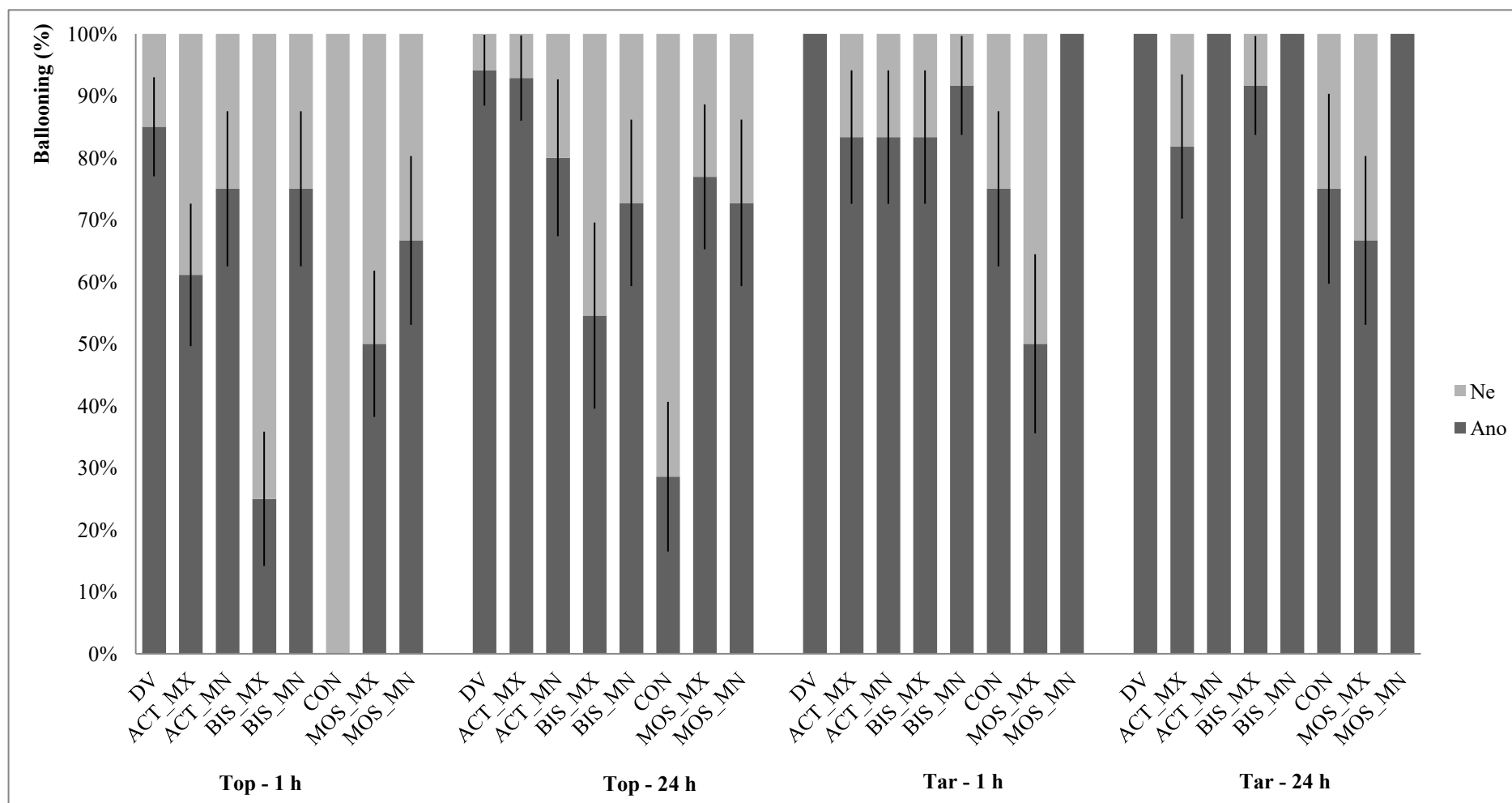
## 5.2 TENDENCE K ŠÍŘENÍ POMOCÍ VĚTRU

Procentuální zastoupení nymfálních jedinců druhu *Phylloneta impressa* vykonávajících chování vedoucí k pasivnímu šíření (tzv. ballooning) po ošetření neonikotinoidy i DV je uvedeno v grafu, viz **Obrázek 9** a v tabulce, viz příloha **Tabulka 27**. Díky z-testu shody populačních pravděpodobností bylo možné porovnat účinky testovaných látek, přesněji tedy DV a pesticidního přípravku a tím zjistit, jaký neonikotinoid měl výrazný negativní účinek na snovačky (ve smyslu omezení jejich schopnosti ballooningu, která byla vyhodnocována dichotomicky). S pomocí z-testu shody populačních pravděpodobností se podařilo zjistit signifikantní rozdíly oproti kontrolnímu působení DV po jednohodinovém působení v případě aplikace látek topikálním způsobem (**Tabulka 21**). Konkrétně byl prokázán signifikantní vliv u přípravků BIS\_MX, CON a MOS\_MX. U tarzální aplikace byl zaznamenán signifikantní vliv jen u látky MOS\_MX. Po působení látek po 24 hodinách byl prokázán signifikantní vliv u topikální aplikace u látek BIS\_MX a CON. U tarzální aplikace po 24 hodinách byl signifikantní vliv zjištěn u látky MOS\_MX. V ostatních případech nebyl zaznamenán statisticky signifikantní rozdíl od kontroly. Na základě prezentovaných výsledků je možné konstatovat, že v tomto testu měl jednoznačně nejvíce negativní vliv přípravek CON u topikální aplikace. U přípravků ACT\_MX, ACT\_MN, BIS\_MN, MOS\_MN nebyly prokázány signifikantní rozdíly, a to v žádné testované situaci, tzn. že tyto přípravky neměly vliv na ballooning pavouků.

**Tabulka 21:** Tabulka zobrazující P-hodnoty pro jednotlivé testované látky (aplikace, časový interval) při testu tendence k šíření pomocí větru u mláďat snovačky *Phylloneta impressa*. Jednotlivé P-hodnoty byly vypočteny za pomoci z-testu shody populačních pravděpodobností (srovnání DV a pesticidního přípravku). Tučně vyznačená čísla jsou –  $P < 0,05$ .

Pesticidní přípravek a jeho koncentrace	Top – 1 h	Top – 24 h	Tar – 1 h	Tar – 24 h
ACT_MX	0,095	0,889	0,139	0,121
ACT_MN	0,484	0,258	0,139	1,000
BIS_MX	<b>&lt; 0,001</b>	<b>0,013</b>	0,139	0,308
BIS_MN	0,484	0,114	0,308	1,000
CON	<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>	0,064	0,067
MOS_MX	<b>0,020</b>	0,171	<b>0,005</b>	<b>0,029</b>
MOS_MN	0,226	0,114	1,000	1,000

Vysvětlivky: MX – maximální koncentrace, MN – minimální koncentrace, top – topikální kontakt, tar – tarzální kontakt.



**Obrázek 9:** Tendence k ballooningu u mláďat snovačky *Phylloneta impressa* po působení vybraných neonikotinoidů. Vysvětlivky: Osa y – procentuální zastoupení aktivity pasivního šíření (%), osa x – testované látky s koncentracemi, chybové úsečky – standardní chyba, top – topikální aplikace a tar – tarzální aplikace, 1 h a 24 h – časový interval mezi aplikací a vyhodnocením.

## 5.3 MORTALITA

Úmrtnost pavouků vyjadřuje tzv. mortalita, což je poměr mrtvých pavouků vůči všem testovaným pavoukům. Smrtelné stavy testovaných pavouků byly vyhodnoceny po jednohodinovém a následně po dvacetičtyřhodinovém působení testovaných látek. Mortality byly vyhodnoceny u adultních a nymfálních jedinců *Pardosa lugubris* a u nymfálních jedinců *Phylloneta impressa*.

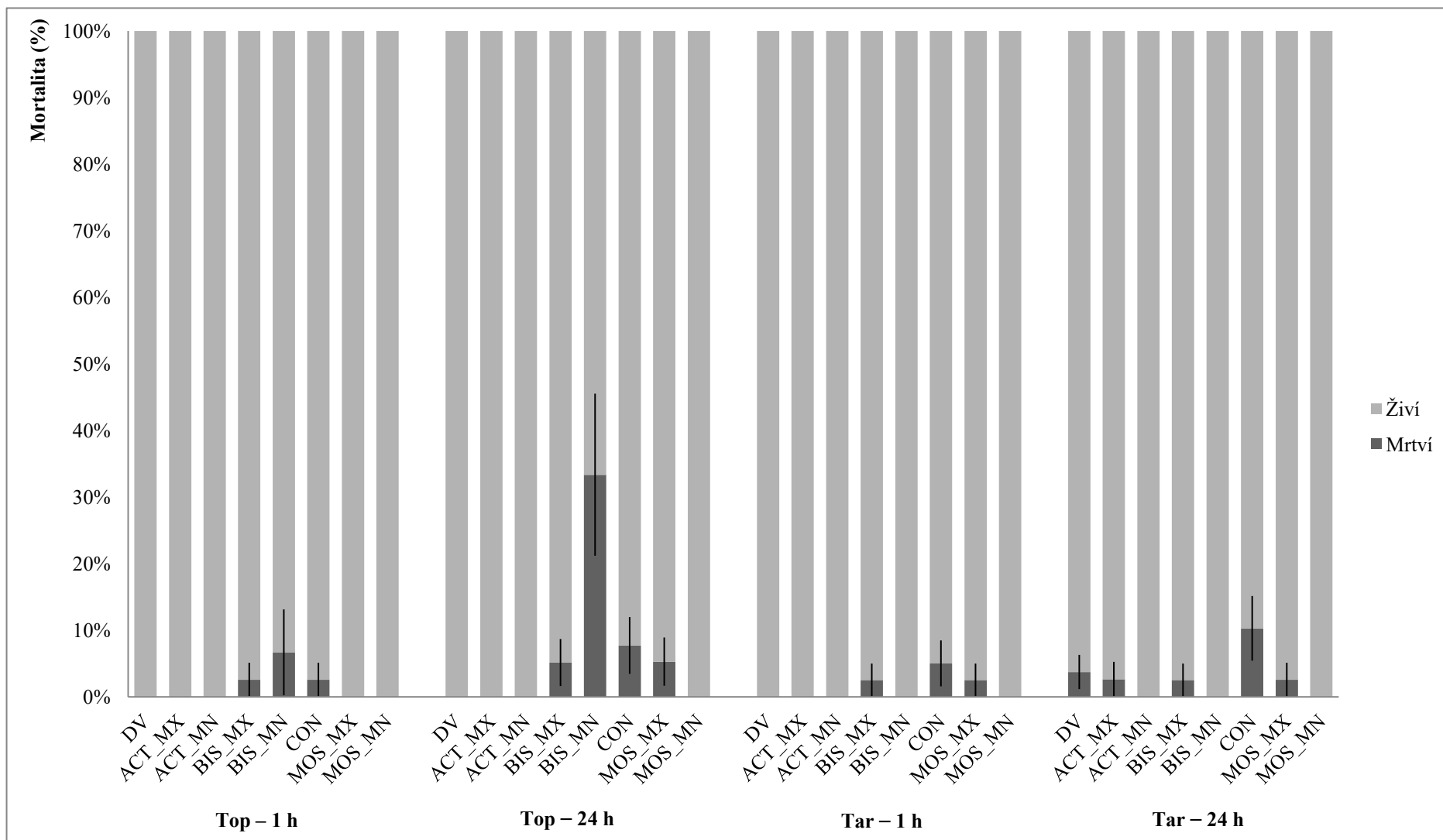
### 5.3.1 PARDOSA LUGUBRIS (ADULTNÍ JEDINCI)

Procentuální mortality adultních jedinců druhu *Pardosa lugubris* po kontaktu s neonikotinoidy jsou zobrazeny na grafu, viz **Obrázek 10** a hodnoty jsou uvedeny v tabulce, viz příloha **Tabulka 28**. Díky z-testu shody populačních pravděpodobností bylo možné porovnat mortality testovaných látek, přesněji tedy DV a pesticidního přípravku a tím zjistit, jaký neonikotinoid způsobil výraznou mortalitu u slídáků. Pomocí z-testu shody populačních pravděpodobností se podařilo zjistit signifikantní rozdíly oproti kontrolnímu působení DV pouze u látky BIS\_MN a CON a to v případě topikální aplikace po 24 hodinách, přičemž ve druhém případě byla P-hodnota testu hraniční (**Tabulka 22**). V ostatních případech nebyl zaznamenán statisticky signifikantní rozdíl. Obecně lze konstatovat, že neonikotinoidy ve výrazné většině případů nezpůsobilý letální účinky u adultních jedinců druhu *Pardosa lugubris*.

**Tabulka 22:** Přehled jednotlivých P-hodnot pro testované látky (aplikace, časový interval) pro mortality ošetřených adultních jedinců druhu *Pardosa lugubris*. P-hodnoty byly vypočteny za pomoci z-testu shody populačních pravděpodobností (srovnání DV a pesticidní látky). Čísla, která jsou označena tučně, jsou –  $P < 0,05$ .

Pesticidní přípravek a jeho koncentrace	Top – 1 h	Top – 24 h	Tar – 1 h	Tar – 24 h
ACT_MX	1,000	1,000	1,000	0,772
ACT_MN	1,000	1,000	1,000	0,447
BIS_MX	0,254	0,110	0,242	0,741
BIS_MN	0,066	<b>&lt; 0,001</b>	1,000	0,447
CON	0,254	<b>0,048</b>	0,097	0,204
MOS_MX	1,000	0,105	0,242	0,757
MOS_MN	1,000	1,000	1,000	0,447

Vysvětlivky: MX – maximální koncentrace, MN – minimální koncentrace, top – topikální kontakt, tar – tarzální kontakt.



**Obrázek 10:** Mortalita u adultních jedinců druhu *Pardosa lugubris* po vystavení vybraným neonicotinoidům. Vysvětlivky: Osa y – procentuální mortalita (%), osa x – testované látky s koncentracemi, chybové úsečky – standardní chyba, top – topikální aplikace a tar – tarzální aplikace, 1 h a 24 h – časový interval mezi ošetřením a vyhodnocením.

### 5.3.2 *PARDOSA LUGUBRIS* (NYMFÁLNÍ JEDINCI)

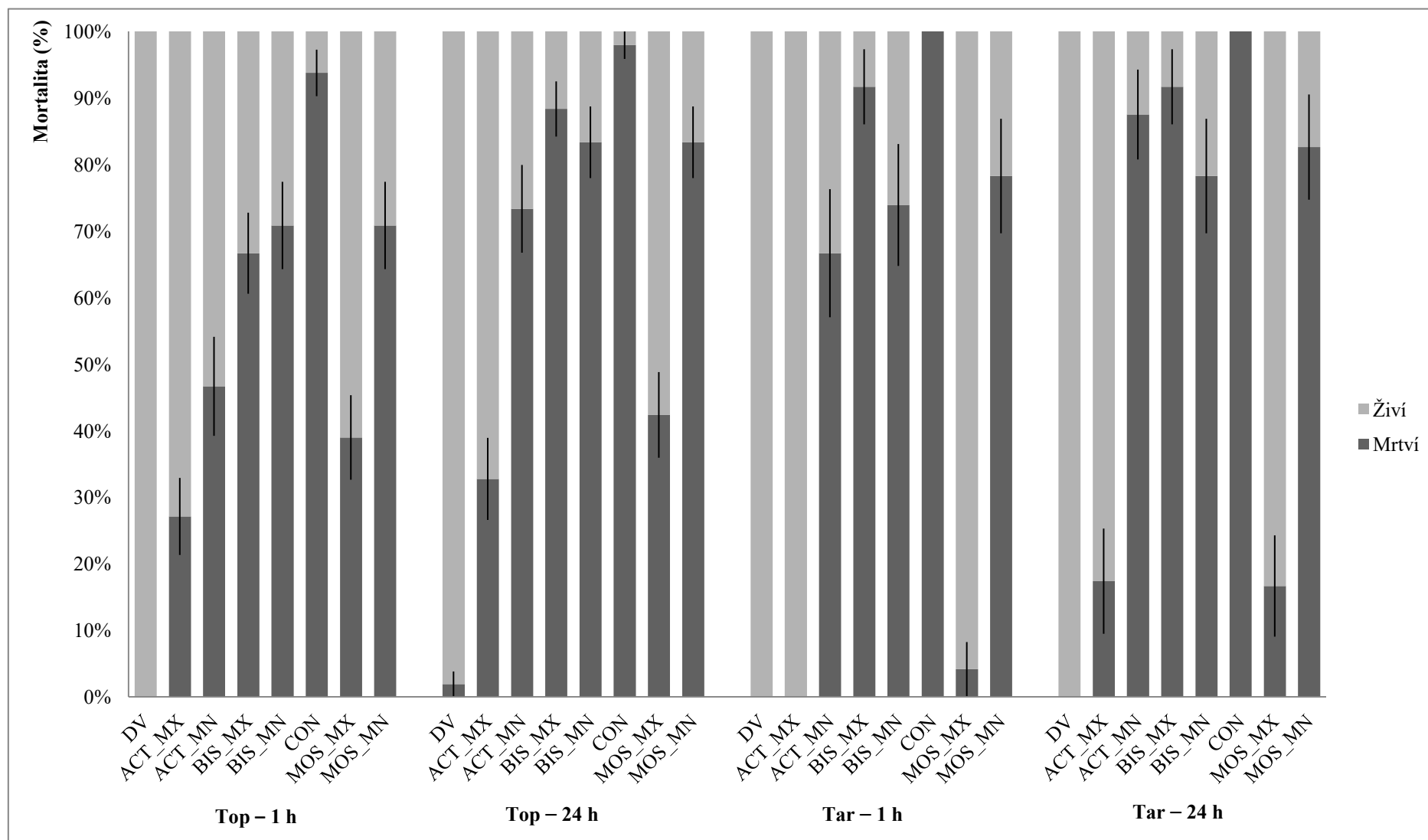
Procentuální mortality nymfálních jedinců druhu *Pardosa lugubris* po kontaktu s neonikotinoidy jsou znázorněny na grafu, viz **Obrázek 11** a hodnoty jsou uvedeny v tabulce, viz příloha **Tabulka 29**. Díky z-testu shody populačních pravděpodobností bylo možné srovnat mortality testovaných látek, přesněji tedy DV a pesticidního přípravku a tím zjistit, jaký neonikotinoid způsobil výraznou mortalitu u slídáků. Pomocí z-testu shody populačních pravděpodobností se podařilo zjistit signifikantní rozdíly oproti kontrolnímu působení DV u většiny testovaných látek neonikotinoidů, po 1 hodině i po 24 hodinách, u topikální i tarzální aplikace (**Tabulka 23**). V případě tarzální aplikace po jednohodinovém a dvacetičtyřhodinovém působení látek nebyl zaznamenán statisticky signifikantní rozdíl pouze u látek ACT\_MX a MOS\_MX. Obecně lze konstatovat, že neonikotinoidy způsobily letální účinky u nymfálních jedinců druhu *Pardosa lugubris*, a to zejména přípravek CON, který v případě tarzální aplikace způsobil 100% úmrtnost pavouků.

**Tabulka 23:** Přehled veškerých vypočítaných P-hodnot pro jednotlivé testované látky (aplikace, časový interval) pro mortality ošetřených nymfálních jedinců druhu *Pardosa lugubris*. Tyto P-hodnoty byly vypočteny za pomoci použití z-testu shody populačních pravděpodobností (porovnání DV a pesticidního přípravku). Čísla, která jsou zvýrazněna tučně –  $P < 0,05$ .

Pesticidní přípravek a jeho koncentrace	Top – 1 h	Top – 24 h	Tar – 1 h	Tar – 24 h
ACT_MX	< 0,001	< 0,001	1,000	0,050
ACT_MN	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
BIS_MX	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
BIS_MN	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
CON	< 0,001	< 0,001	< 0,001	N/A
MOS_MX	< 0,001	< 0,001	0,332	0,056
MOS_MN	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001

Vysvětlivky: MX – maximální koncentrace, MN – minimální koncentrace, top – topikální kontakt, tar – tarzální kontakt, N/A – not available/not applicable.





**Obrázek 11:** Mortalita u nymfálních jedinců druhu *Pardosa lugubris* po vystavení vybraným neonikotinoidům. Vysvětlivky: Osa y – procentuální mortalita (%), osa x – testované látky s koncentracemi, chybové úsečky – standardní chyba, top – topikální aplikace a tar – tarzální aplikace vyhodnocení, 1 h a 24 h – časový interval mezi ošetřením a vyhodnocením.

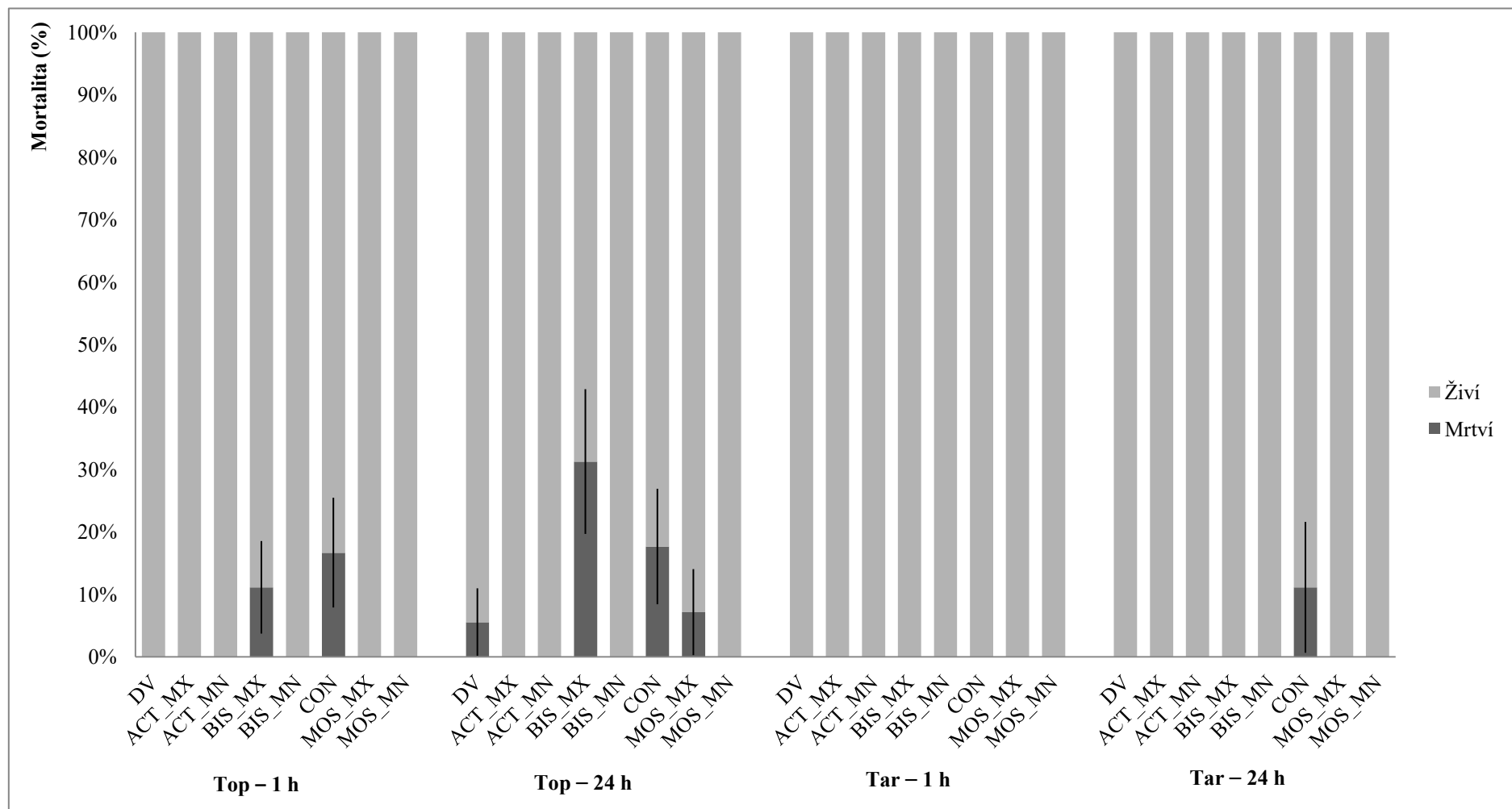
### 5.3.3 *PHYLLONETA IMPRESSA* (NYMFÁLNÍ JEDINCI)

Procentuální mortality nymfálních jedinců druhu *Phylloneta impressa* po kontaktu s neonikotinoidy jsou znázorněny na grafu, viz **Obrázek 12** a hodnoty jsou uvedeny v tabulce, viz příloha **Tabulka 30**. Díky z-testu shody populačních pravděpodobností bylo možné porovnat mortality testovaných látek, přesněji tedy DV a pesticidního přípravku a tím zjistit, jaký neonikotinoid způsobil výraznou mortalitu u snovaček. Pomocí z-testu shody populačních pravděpodobností se nepodařilo zjistit signifikantní rozdíly oproti kontrolnímu působení DV (**Tabulka 24**), tzn. že v žádném z případů nebyl zaznamenán statisticky signifikantní rozdíl. Obecně lze konstatovat, že neonikotinoidy nezpůsobily letální účinky u nymfálních jedinců druhu *Phylloneta impressa*.

**Tabulka 24:** Přehled vypočítaných jednotlivých P-hodnot pro testované látky (aplikace, časový interval) pro mortality ošetřených adultních jedinců druhu *Phylloneta impressa*. P-hodnoty byly vypočteny za pomoci použití z-testu shody populačních pravděpodobností (pokaždé pro DV a pesticidní přípravek). V tomto případě není žádný případ statisticky signifikantní, P vždy > 0,05.

<b>Pesticidní přípravek a jeho koncentrace</b>	<b>Top – 1 h</b>	<b>Top – 24 h</b>	<b>Tar – 1 h</b>	<b>Tar – 24 h</b>
ACT_MX	1,000	0,368	1,000	1,000
ACT_MN	1,000	0,447	1,000	1,000
BIS_MX	0,126	0,050	1,000	1,000
BIS_MN	1,000	0,424	1,000	1,000
CON	0,057	0,263	1,000	0,238
MOS_MX	1,000	0,857	1,000	1,000
MOS_MN	1,000	0,424	1,000	1,000

Vysvětlivky: MX – maximální koncentrace, MN – minimální koncentrace, top – topikální kontakt, tar – tarzální kontakt.



**Obrázek 12:** Mortalita u nymfálních jedinců druhu *Phylloneta impressa* po vystavení vybraným neonikotinoidům. Vysvětlivky: Osa y – procentuální mortalita (%), osa x – testované látky s koncentracemi, chybové úsečky – standardní chyba, top – topikální aplikace a tar – tarsální aplikace, 1 h a 24 h – časový interval mezi ošetřením a vyhodnocením.

## 6 DISKUSE

V rámci této diplomové práce byly provedeny experimentální testy za účelem zjištění dopadů vybraných neonikotinoidů na migrační schopnosti 2 druhů pavouků a jejich mortalitu. Výsledky jasně ukazují, že na mobilitu testovaných jedinců pavouků měl v porovnání s kontrolou jednoznačně nejvýraznější negativní účinek přípravku Confidor® 200 OD (imidacloprid). Nejvíce negativní účinek tohoto přípravku byl signifikantně prokázán i u ballooningu (u topikální aplikace). Detailnější analýzou u lokomoce (u maximálních rychlostí pavouků) bylo zjištěno, že všechny přípravky pesticidů (zejména vyšší koncentrace), konkrétně Actara® 25 WG (thiamethoxam), Biscaya® 240 OD (thiacloprid), Confidor® 200 OD (imidacloprid) a Mospilan® 20 (acetamiprid) měly vliv na dosažené maximální rychlosti pavouků již po 1 hodině u obou aplikací, tzn. že pavouci se pohybovali pomaleji (nízké maximální rychlosti). Po 24 hodinách došlo ke zlepšení stavů pavouků, pavouci se pohybovali rychleji (vysoké maximální rychlosti).

Přesto, že je vliv různých pesticidů na pavouky obecně znám (viz např. Benamú et al. 2017; Butt et al. 2019; Evans et al. 2010; Chen et al. 2012; Lengwiler a Benz 1994; Michalková a Pekár 2009; Pekár a Beneš 2008; Řezáč et al. 2010; Samu a Vollrath 1992; Shaw et al. 2005; Shaw et al. 2006; Tietjen a Cady 2007; Vetter et al. 2016), konkrétnímu testování vlivu neonikotinoidů na tuto skupinu členovců byla věnována jen menší pozornost (viz Korenko et al. 2020) a jejich konkrétní efekty na necílové a prospěšné organismy nejsou zatím příliš dobře známy (Benamú et al. 2017). Pesticidy obecně mohou mít letální nebo subletální účinky na pavouky a mohou ovlivnit jejich aktivitu, pohyb, vytváření sítí a reprodukční chování i hojnost (Büchs et al. 2018).

### 6.1 PARAMETRY LOKOMOCE

Pohyblivost u pavouků je nesmírně důležitá. Dojde-li k narušení pohyblivosti pavouka (např. vlivem pesticidu), může být ovlivněna jeho životní rovnováha. Omezená lokomoce může mít dopad například na predatní schopnosti, páření, smysly pavouka apod. Na tato rizika upozorňuje i ve své práci Shaw et al. (2006).

V předložené práci bylo zjištěno, že všechny testované neonikotinoidy (zejména jejich vyšší koncentrace) na adultní jedince druhu *Pardosa lugubris* (Walckenaer, 1802) měly větší účinek po 1 hodině než po 24 hodinách a to u obou typů aplikace, tzn. že pavouci se po jednohodinovém působení látek pohybovali pomaleji (nízké maximální rychlosti) (signifikanční rozdíly, viz **Tabulka 11**). Z výsledků u maximálních rychlostí

pavouků je tedy evidentní, že po 24 hodinách pravděpodobně došlo u většiny látek k odeznění účinků. Pavouci se pohybovali rychleji. U uražených vzdáleností pavouků nebyl zjištěn odlišný účinek přípravků po 1 hodině, respektive po 24 hodinách (signifikantní rozdíly jen v několika případech, přičemž v některých případech došlo ke zlepšení a v některých ke zhoršení; viz **Tabulka 18**). Z hlediska zjištění rozdílnosti mezi topikální a tarzální aplikací přípravků, jak u maximálních rychlostí (viz **Tabulka 12, 13**), taktéž i u vzdáleností (viz **Tabulka 19, 20**) ve většině případů nebyly zjištěny signifikantní rozdíly (jen pár výjimek), tzn. že není rozdíl mezi oběma kontakty. Ohledně uražených vzdáleností a maximálních rychlostí ošetřených jedinců měl nejvíce negativní vliv na adultní jedince druhu *Pardosa lugubris* přípravek Confidor, u kterého oproti kontrole z testovaných neonikotinoidů na mobilitu pavouků (v obou případech – maximální rychlost a vzdálenost) byly prokázány signifikantní rozdíly (viz **Tabulka 7, 8, 9, 10, 14, 15, 16, 17**). Jen u nižší koncentrace přípravku Actara (thiamethoxam) bylo oproti kontrole zjištěno, že neměl vliv na maximální rychlost pavouků (nebyl prokázán signifikantní rozdíl a to v žádné testované situaci; viz **Tabulka 7, 8, 9, 10**).

Vlivem imidaclopridu v různých koncentracích (12,5; 25; 50; 100; 200 mg/l) na pavouky se zabývali i Chen et al. (2012). Autoři nedokumentovali přímo mobilitu pavouků, ale s pavouky provedli jiné testy, pro které byl pohyb nezbytný. Navíc autoři analyzovali druh pavouka, který náleží rovněž do stejné čeledi, jako náš testovaný druh (včetně stejného rodu – *Pardosa*). Z tohoto důvodu se pro srovnání s našimi výsledky hodí nejvíce. Chen et al. (2012) testovali slíďáka druhu *Pardosa pseudoannulata* (Bösenberg & Strand, 1906). S ošetřenými pavouky byly provedeny pokusy zaměřené na plodnost (fekunditu), vývoj potomstva, predaci a aktivitu detoxikačních enzymů. Ve svých výsledcích autoři uvedli, že samice po ošetření imidaclopridem produkovaly méně vajíček ve srovnání s kontrolou (nejméně účinek u samic vystavených koncentraci 200 mg/l imidaclopridu). Průběh vývoje (neexponovaného) potomstva od 3. do 7. instaru trval signifikantně déle než u kontrolní skupiny. Byl zjištěn pokles predáčních schopností pavouků. Konkrétně tedy koeficient četnosti zaútočení na kořist byl u většiny ošetřených pavouků signifikantně nižší než ve srovnání s kontrolou (výjimkou byli ošetření pavouci koncentrací 12,5 mg/l imidaclopridu, kde byl koeficient zaútočení na kořist vyšší). Doba konzumace kořisti u ošetřených pavouků byla delší oproti kontrole (mezi ošetřenými pavouky koncentrací 12,5 mg/l imidaclopridu a kontrolou nebyl potvrzen signifikantní rozdíl). Účinkem imidaclopridu se snížila aktivita enzymů, konkrétně aktivity

karboxylesterázy, acetylcholinesterázy a oxidázy (se smíšenou funkcí), byly u ošetřených pavouků imidaclopridem převážně signifikantně nižší než u kontroly (výjimka u aktivity karboxylesterázy, která byla v případě koncentrace 12,5 mg/l imidaclopridu nejvyšší). Výsledky ukazují, že imidacloprid může stimulovat chování pavouků (i v nízké koncentraci) (Chen et. al 2012). Chen et al. (2012) zjistili, že imidacloprid (oproti kontrole) měl vliv na plodnost (fekunditu), vývoj potomstva, predaci a aktivitu detoxikačních enzymů pavouků. Při výzkumu k této práci bylo zjištěno, že u adultních jedinců slíďáka druhu *Pardosa lugubris* (Walckenaer, 1802) působil imidacloprid (Confidor) v porovnání s kontrolou nejvíce negativně na jejich mobilitu. Výsledky z testů provedených u slíďáka druhu *Pardosa pseudoannulata* (Chen et al. 2012) tedy odpovídají našim výsledkům na slíďákovi druhu *Pardosa lugubris*, tzn. že imidacloprid má (negativní) účinky na pavouky slíďáky a omezuje jejich důležité životní aspekty. V našem případě bylo ještě detailnější analýzou zjištěno, že neonikotinoidy (acetamiprid, imidacloprid, thiacloprid, thiamethoxam; vyšší koncentrace) ovlivnily maximální rychlosti pavouků po 1 hodině u obou aplikací (pavouci se pohybovali pomaleji; nižší maximální rychlosti). Po 24 hodinách došlo u pavouků ke zlepšení (vyšší maximální rychlosti).

K podobným závěrům v rámci vlivu imidaclopridu (Confidor® 20 SL) na pavouky přispěli svými poznatky i Butt et al. (2019), kteří testovali paslíďáka druhu *Oxyopes javanus* Thorell, 1887. V našem případě byl testován zcela jiný druh pavouka, konkrétně slíďák druhu *Pardosa lugubris* (Walckenaer, 1802). Naše výsledky se studií Butt et al. (2019) porovnáváme z důvodu, že k testování používali také imidacloprid. Přesto, že Butt et al. (2019) nedokumentovali konkrétně pohyblivost pavouků, ale provedli s nimi jiné testy, pro které byla pohyblivost nezbytná, z tohoto důvodu se pro srovnání s našimi výsledky hodí nejvíce. Butt et al. (2019) testovali kromě imidaclopridu ještě navíc další 2 komerční insekticidy, lambda-cyhalothrin (Karate® 2,5 EC) a emamectin benzoát (Proclaim® 1,9 EC). Provedli testy, které byly zaměřené na vlivy těchto látek (subletálních koncentrací) na chování ošetřeného studovaného druhu *Oxyopes javanus*, konkrétně tedy na jeho funkční odpověď. Bylo zjištěno, že všechny tyto insekticidy mají neurotoxický způsob působení a mohou snižovat predací aktivitu pavouků. Podíl spotřebované kořisti se snižoval se zvyšujícím se množstvím kořisti. Ve výsledcích autoři uvedli, že četnost napadení kořisti ošetřených pavouků insekticidy byla oproti kontrole signifikantně nižší. Nejnižší četnost napadení kořisti byla zjištěna u pavouků, kteří byli ošetřeni imidaclopridem, následovali ošetření pavouci lambda-cyhalothrinem a emamectinem

benzoátem. Autoři zjistili, že u pavouků ošetřených insekticidy, byly nižší četnosti napadení kořisti a delší doby manipulace ve srovnání s kontrolou. Doby konzumace kořisti pavouky u kontroly byly obdobné jako u imidaclopridu, signifikantně kratší než u emamectinu benzoátu a signifikantně delší než u lambda-cyhalothrinu (Butt et al. 2019). Butt et al. (2019) zjistili, že nejen imidacloprid, ale i lambda-cyhalothrin a emamectin benzoát měli vliv na predaci paslídáka druhu *Oxyopes javanus*. Naše výsledky ukázaly, že imidacloprid (Confidor) v porovnání s kontrolou ovlivnil nejvíce negativně mobilitu adultních jedinců slídáka druhu *Pardosa lugubris*. Výsledky z testů provedených u paslídáka druhu *Oxyopes javanus* (Butt et al. 2019) tedy odpovídají našim výsledkům na slídákovi druhu *Pardosa lugubris*, tzn. že imidacloprid má (negativní) účinky na životní aspekty pavouků, a to nejen u slídáků, ale i u paslídáků. Kromě toho Butt et al. (2019) přispěli svými výsledky i o účincích jiných insekticidů na pavouka *Oxyopes javanus*, konkrétně lambda-cyhalothrinu a emamectinu benzoátu. Navíc v našem případě bylo detailnější analýzou zjištěno, že neonikotinoidy (acetamiprid, imidacloprid, thiacloprid, thiamethoxam; vyšší koncentrace) měly vliv na maximální rychlosti pavouků po 1 hodině u obou aplikací (pavouci se pohybovali pomaleji; nižší maximální rychlosti). Po 24 hodinách došlo u pavouků ke zlepšení (vyšší maximální rychlosti).

Účinkem insekticidu na pavouky (vystavení topikální aplikací) se zabývali i Shaw et al. (2006). Přesto, že autoři neprovedli přímo testy zaměřené na dokumentaci lokomoce pavouků, provedli ale s nimi jiné testy, pro které byla pohyblivost důležitá. Autoři testovali druh pavouka, který náleží rovněž do stejné čeledi, jako náš testovaný druh (včetně stejného rodu – *Pardosa*). Pro porovnávání s našimi výsledky se tedy právě hodí studie Shaw et al. (2006), kteří testovali slídáky druhu *Pardosa amentata* (Clerck, 1757), i přesto, že autoři testovali zcela jiný insekticid. Shaw et al. (2006) testovali komerční formulaci cypermethrinu (Toppel 10), u kterého zkoumali konkrétně jeho vliv na stravovací chování pavouka *Pardosa amentata*. Bylo zjištěno, že během prvních 2 hodin nebyla konzumována žádná kořist. Následně po 24 hodinách byla zaznamenána variabilní konzumace. Od 2 dnů až do konce sledovaného období byly téměř všechny kořisti konzumovány. Výsledky této studie ukázaly, že během období 24 hodin pavouci zkonzumovali méně kořisti (signifikanční rozdíl) (Shaw et al. 2006). Výsledky našeho výzkumu u adultních jedinců slídáka druhu *Pardosa lugubris* (Walckenaer, 1802) bylo zjištěno, že testovaný insekticid, tedy imidacloprid (Confidor) ovlivnil dosažené maximální rychlosti pavouků již po 1 hodině u obou aplikací (jejich maximální rychlosti byly nízké). To samé bylo zjištěno

i u neonikotinoиду thiamethoxam (Actara), thiacloprid (Biscaya) a acetamiprid (Mospilan), u vyšších koncentrací. Po 24 hodinách došlo ke zlepšení stavů pavouků (vyšší maximální rychlosti). Navíc bylo zjištěno, že imidacloprid (Confidor) ve srovnání s kontrolou ovlivnil nejvíce negativně mobilitu adultních jedinců slídáka druhu *Pardosa lugubris*. Výsledky z testů provedených u slídáka druhu *Pardosa amentata* (Shaw et al. 2006) tedy odpovídají našim výsledkům na slídákovi druhu *Pardosa lugubris*, tzn. že nejen neonikotinoidy (acetamiprid, imidacloprid, thiacloprid, thiamethoxam; vyšší koncentrace), ale i cypermethrin mají účinky na pavouky slídáky po 1 hodině a omezují důležité životní aspekty u těchto pavouků. Odeznívání jejich účinků je postupné.

Vlivem pesticidů na pavouky se zabývali i Řezáč et al. (2010). V jejich případě byly testovány insekticidy Decis flow 2,5, Dimilin 48 SC, Integro, Mospilan 20 SP, NeemAzal T/S a SpinTor 480 SC. Testy provedli s pavouky druhu *Philodromus cespitum* (Walckenaer, 1802). Pavouci byli vystaveni reziduím látek (Řezáč et al. 2010). Sice tyto autoři neprovedli přímo testy zaměřené na dokumentaci lokomoce pavouků, ale provedli s nimi jiné testy, pro které byla pohyblivost nezbytná. Řezáč et al. (2010) provedli testy zaměřené na predaci studovaného druhu *Philodromus cespitum*. Bylo zjištěno, že z hlediska mortality, jsou některé insekticidy (díky vysoké selektivitě) pro testované pavouky (*Philodromus*) neškodné. Výrazně ale u těchto pavouků snižují funkční odpověď a potenciálně omezují jejich potenciál regulovat škůdce. Proto by se studie neměly zaměřovat jen na sledování mortality, obzvláště v případě, kdy přípravek se jeví jako neškodný (Řezáč et al. 2010). Nižší míra predace byla zjištěna u pavouků ošetřených Dimilinem a NeemAzalem (v porovnání s kontrolou signifikantní rozdíl). Nejnížší míra predace byla u SpinToru (signifikantní rozdíl). Integro (nepatrné zvýšení) a Mospilan (pouze nepatrné snížení) neměl vliv na funkční odpověď pavouků (v obou případech nesignifikantní rozdíl). Insekticid Decis způsobil vysokou mortalitu u pavouků, z tohoto důvodu nebyl dále testován (Řezáč et al. 2010). Z hlediska účinnosti vyhledávání bylo zjištěno, že u většiny látek byla podobná (kromě NeemAzalu – signifikantní zvýšení oproti kontrole) (Řezáč et al. 2010). Náš výzkum provedený u adultních jedinců slídáka druhu *Pardosa lugubris* (Walckenaer, 1802) zjistil, že oproti kontrole měl insekticid imidacloprid (Confidor) nejvíce negativní vliv na mobilitu pavouků. Detailnější analýzou bylo zjištěno, že ošetření pavouci *Pardosa lugubris* neonikotinoidy (vyšší koncentrace) thiamethoxam (Actara), thiacloprid (Biscaya), imidacloprid (Confidor) a acetamiprid (Mospilan) se po 1 hodině pohybovali pomaleji (nízké maximální rychlosti u obou aplikací).



Po 24 hodinách došlo ke zlepšení stavů pavouků (vyšší maximální rychlosti). Výsledky z testů provedených u listovníka druhu *Philodromus cespitum* (Řezáč et al. 2010) tedy odpovídají našim výsledkům na slíďákovi druhu *Pardosa lugubris*, tzn. nejen imidacloprid (Confidor; ve srovnání s kontrolou), ale i jiné insekticidy jako je Dimilin, NeemAzal a SpinTor mají účinky na životní aspekty pavouků. Navíc v našem případě bylo detailnější analýzou zjištěno, že neonikotinoidy (acetamiprid, imidacloprid, thiacloprid, thiamethoxam; vyšší koncentrace) způsobily u pavouků pomalé maximální rychlosti po 1 hodině u obou aplikací. Po 24 hodinách došlo u pavouků ke zlepšení (vyšší maximální rychlosti). Řezáč et al. (2010) testovali i neonikotinoid Mospilan, u kterého ale zjistili, že neměl vliv na funkční odpověď pavouků (i Integro). V rámci našeho výzkumu byl Mospilan také testován. Kdy detailnější analýzou bylo zjištěno, že Mospilan (acetamiprid; vyšší koncentrace) měl vliv na maximální rychlosti pavouků druhu *Pardosa lugubris* po 1 hodině (po 24 hodinách došlo u pavouků ke zlepšení).

Vlivem pesticidů na mobilitu pavouků se zaměřili například Tietjen a Cady (2007), Michalková a Pekár (2009), Shaw et al. (2005), Pekár a Beneš (2008), Evans et al. (2010). Tyto studie přispěly svými poznatky o vlivech různých pesticidů (insekticidy, herbicidy) na různé pavouky (slíďáky, plachetnatky, skákavky). Ačkoli v našem případě byl testován slíďák druhu *Pardosa lugubris* (Walckenaer, 1802), je možné obecně porovnat výsledky těchto publikací s našimi výsledky.

V případě Tietjen a Cady (2007) byl zkoumán vliv insekticidu malathionu (subletální koncentrace) na lokomoci pavouků. Pavouci byli v kontaktu s látkou na ošetřeném povrchu (vyjma *Schizocosa ocreata*). Byly testovány 4 druhy pavouků, konkrétně 2 slíďáci druhu *Schizocosa ocreata* (Hentz, 1844) a *Rabidosa rabida* (Walckenaer, 1837), dále plachetnatka druhu *Frontinella communis* (Hentz, 1850) a skákavka druhu *Salticus scenicus* (Clerck, 1757) (Tietjen a Cady 2007). Jak již bylo výše zmíněno, tyto autoři dokumentovali přímo mobilitu pavouků, ale s jiným insekticidem. I z tohoto důvodu porovnáváme naše výsledky se studií Tietjen a Cady (2007). Autoři analyzovali více druhů pavouků, mezi studovanými druhy byli i 2 zástupci, kteří náleží rovněž do stejné čeledi, jako náš testovaný druh. Tietjen a Cady (2007) zjistili, že malathion měl vliv na pohyblivost pavouků, tedy že subletální vystavení malathionu způsobilo u těchto druhů pavouků změny jejich aktivit. U pavouků vystavených malathionu došlo ke změnám ve sklonu k pohybu, způsobu pohybu a vzdálenosti (Tietjen a Cady 2007). Naším výzkumem u adultních jedinců slíďáka druhu *Pardosa lugubris*

(Walckenaer, 1802) bylo zjištěno, že v porovnání s kontrolou působil nejvíce negativně na pohyblivost pavouků insekticid imidacloprid (Confidor). Detailnější analýzou bylo zjištěno, že imidacloprid (Confidor) způsobil u pavouků nízké maximální rychlosti již po 1 hodině u obou aplikací. Podobně tak tomu bylo i u neonikotinoиду thiamethoxam (Actara), thiacloprid (Biscaya) a acetamiprid (Mospilan), u vyšších koncentrací. Po 24 hodinách došlo ke zlepšení stavů pavouků (vyšší maximální rychlosti). Výsledky z testů provedených nejen u slíďáků druhů *Schizocosa ocreata* a *Rabidosa rabida*, ale i též u plachetnatky druhu *Frontinella communis* a skákavky druhu *Salticus scenicus* (Tietjen a Cady 2007) tedy odpovídají našim výsledkům na slíďákovi druhu *Pardosa lugubris*, tzn. že nejen imidacloprid (oproti kontrole), ale i malathion mají vlivy na různé druhy pavouků a omezují jejich důležité životní aspekty. Navíc v našem případě bylo detailnější analýzou zjištěno, že neonikotinoidy (acetamiprid, imidacloprid, thiacloprid, thiamethoxam; vyšší koncentrace) ovlivnily maximální rychlosti pavouků po 1 hodině u obou aplikací (pavouci se pohybovali pomaleji; nižší maximální rychlosti). Po 24 hodinách došlo u pavouků ke zlepšení (vyšší maximální rychlosti).

Michalková a Pekár (2009) testovali vliv herbicidu, konkrétně komerční formulaci (Roundup Biaktiv<sup>®</sup>) na 2 necílové členovce (pavouk, brouk). Testy byly provedeny se slíďákem druhu *Pardosa agricola* (Thorell, 1856) a broukem druhu *Poecilus cupreus* (Linnaeus, 1758) (Michalková a Pekár 2009). Jak již bylo zmíněno i tito autoři dokumentovali mobilitu pavouků, ale testovali jiný pesticid. Autoři testovali druh pavouka, který náleží rovněž do stejné čeledi, jako náš testovaný druh (včetně stejného rodu – *Pardosa*). Z tohoto důvodu porovnáváme naše výsledky se studií Michalková a Pekár (2009). Michalková a Pekár (2009) zkoumali vliv herbicidu na predaci, lokomoci, vyhýbání se, obranu, páření. Došlo k vystavení reziduím herbicidu (čerstvé reziduum a den staré). Autoři ve svých výsledcích uvedli, že predace (zachycení, konzumace kořisti) u pavouků se nelišily mezi pavouky vystavenými reziduím herbicidu a povrchu kontroly (nesignifikantní rozdíl). Podobně tak tomu bylo i u brouků, kdy predace (zachycení, konzumace kořisti) nebyly ovlivněny ošetřením (nesignifikantní rozdíl). U lokomoce pavouků bylo zjištěno, že pavouci běželi nepatrně pomaleji, potom co byli vystaveni reziduím herbicidu (nesignifikantní rozdíl). Z hlediska lokomoce brouků bylo zjištěno, že brouci vystaveni oběma reziduím herbicidu se pohybovali signifikantně pomaleji oproti kontrole. Z hlediska vyhýbání se ošetřeným povrchům bylo zjištěno, že preference u slíďáků se mezi ošetřeními (kontrolou a oběma typy reziduí) v průběhu 60 minut

nezměnila (nesignifikantní rozdíl) a byla obdobná kontrole (nesignifikantní rozdíl), tzn. že nedošlo k vyhýbání se ošetřeným povrchům. Podobně tak tomu bylo i u brouků, ale pouze v případě ošetřeného povrchu rezidui den staré (nesignifikantní rozdíl), preference byla podobná jako u kontroly (nesignifikantní rozdíl). Preference u brouků mezi kontrolou a ošetřeným povrchem čerstvými rezidui se v průběhu 60 minut změnila (signifikantní rozdíl), tzn. že v tomto ohledu došlo k vyhýbání se tomuto ošetřenému povrchu. Rezidua herbicidů neovlivnila efektivnost útěku pavouků před predátorem (*Xysticus*) a neměla žádný škodlivý vliv i na námluvy, frekvenci a dobu páření u pavouků (nesignifikantní rozdíly) (Michalková a Pekár 2009). V našem případě výzkumem u adultních jedinců slíďáka druhu *Pardosa lugubris* (Walckenaer, 1802) bylo zjištěno, že ve srovnání s kontrolou měl insekticid imidacloprid (Confidor) výrazný negativní vliv na mobilitu pavouků. Navíc díky detailnější analýze bylo zjištěno, že ošetření pavouci *Pardosa lugubris* neonikotinoidy (vyšší koncentrace) thiamethoxam (Actara), thiacloprid (Biscaya), imidacloprid (Confidor) a acetamiprid (Mospilan) se pohybovali pomaleji (nízké maximální rychlosti) po 1 hodině (u obou aplikací). Po 24 hodinách došlo ke zlepšení stavů pavouků (vyšší maximální rychlosti). Výsledky z testů provedených u slíďáka druhu *Pardosa agricola* (Thorell, 1856) a u brouka druhu *Poecilus cupreus* (Linnaeus, 1758) (Michalková a Pekár 2009) jsou odlišné od našich výsledků na slíďákovi druhu *Pardosa lugubris*. Výjimkou jsou testy z hlediska lokomoce u brouka *Poecilus cupreus* dle Michalková a Pekár (2009), které odpovídají našim výsledkům na slíďákovi *Pardosa lugubris*.

Vlivem insekticidu na pavouky se zabývali Shaw et al. (2005), kteří konkrétně testovali cypermethrin. Tomuto insekticidu byl topikální aplikací vystaven pavouk druhu plachetnatky *Tenuiphantes tenuis* (Blackwall, 1852) (Shaw et al. 2005). Autoři testovali vliv cypermethrinu na mobilitu pavouků, a proto srovnáváme naše výsledky s jejich studií. Shaw et al. (2005) zkoumali dopad insekticidu na tvorbu sítě pavouka *Tenuiphantes tenuis*, přičemž byl zaznamenán i pohyb pavouků. Během vytváření svých plachetnatkovitých pavučin byli pavouci natáčeni kamerou. Ve svých výsledcích autoři uvedli, že cypermethrin signifikantně snížil hladiny pohybu pavouků, tzn. pavouci ušli signifikantně kratší vzdálenosti (Shaw et al. 2005). V našem případě u adultních jedinců slíďáka druhu *Pardosa lugubris* (Walckenaer, 1802) bylo zjištěno, že v porovnání s kontrolou působil nejvíce negativně na pohyblivost pavouků testovaný insekticid imidacloprid (Confidor). Výsledky z testů provedených u plachetnatky druhu *Tenuiphantes tenuis* (Shaw et al. 2005) tedy odpovídají našim výsledkům na slíďákovi druhu *Pardosa lugubris*, tzn. že

nejen insekticid imidacloprid, ale i jiný insekticid – cypermethrin mají (negativní) účinky na životní aspekty různých druhů pavouků. Navíc v našem případě bylo detailnější analýzou zjištěno, že neonikotinoidy (acetamiprid, imidacloprid, thiacloprid, thiamethoxam; vyšší koncentrace) měly vliv na maximální rychlosti pavouků po 1 hodině u obou aplikací (pavouci se pohybovali pomaleji; nižší maximální rychlosti). Po 24 hodinách došlo u pavouků ke zlepšení (vyšší maximální rychlosti).

Pekár a Beneš (2008) se zabývali vlivem různých pesticidů na pohyblivost pavouků. V jejich případě byl testován Command 4EC (herbicid), Decis Flow 2,5 (insekticid) a Nurelle D (insekticid). Pavouci byli vystaveni čerstvým reziduím a starým (několik dní – 10 až 20 dní starým) Zkoumaným pavoukem byl druh slíďáka *Pardosa palustris* (Linnaeus, 1758), se kterým byly provedeny testy v rámci pohybu a vyhýbání se. Autoři testovali druh cedivečky *Dictyna uncinata* Thorell, 1856, druh listovníka *Philodromus cespitum* (Walckenaer, 1802) a druh snovačky *Phylloneta impressa* (L. Koch, 1881) (Pekár a Beneš 2008). Naše výsledky se studií Pekár a Beneš (2008) srovnáváme z důvodu jejich výzkumu mobility pavouků za použití pesticidní látky. Autoři testovali druhy pavouka, který náleží rovněž do stejné čeledi, jako náš studovaný druh (včetně stejného rodu – *Pardosa*), proto se pro srovnání s našimi výsledky hodí nejvíce. Pekár a Beneš (2008) zjistili, že pavouci, kteří byli vystaveni Commandu, byli aktivní (nepatrně) delší dobu než u kontroly (nesignifikantní rozdíl). V případě vystavení Decisu a Nurelle byli pavouci méně aktivní oproti kontrole. Z hlediska schopnosti rozeznat kontaminované plochy vyhýbání bylo u *Pardosa palustris* zjištěno, že v případě ošetřeného povrchu Commandem se pavouci nevyhýbali, setrvali na něm v podobném čase jako u kontroly (nesignifikantní rozdíl), u Decisu a Nurelly pavouci strávili na ošetřeném povrchu v průměru méně času v porovnání s kontrolou. U Decisu čtyřikrát méně (signifikantní rozdíl), u Nurelly devětkrát méně (signifikantní rozdíl) (Pekár a Beneš 2008). Pekár a Beneš (2008) ve svých výsledcích uvedli, že látky pesticidů ovlivnily pohyb pavouků. V našem případě u adultních jedinců slíďáka druhu *Pardosa lugubris* (Walckenaer, 1802) bylo zjištěno, že imidacloprid (Confidor) oproti kontrole působil nejvíce negativně na mobilitu pavouků. Výsledky z testů provedených u slíďáka druhu *Pardosa palustris* (Pekár a Beneš 2008) tedy odpovídají našim výsledkům na slíďákovi druhu *Pardosa lugubris*, tzn. že nejen insekticid imidacloprid, ale i jiné pesticidy – Command, Decis, Nurelle mají (negativní) účinky na životní aspekty slíďáků. Navíc v našem případě bylo ještě detailnější analýzou zjištěno, že neonikotinoidy (acetamiprid, imidacloprid,

thiacloprid, thiamethoxam; vyšší koncentrace) ovlivnily maximální rychlosti pavouků po 1 hodině u obou aplikací (pavouci se pohybovali pomaleji; nižší maximální rychlosti). Po 24 hodinách došlo u pavouků ke zlepšení (vyšší maximální rychlosti).

Evans et al. (2010) zkoumali vliv herbicidu. Jednalo se o komerční formuli herbicidu na bázi glyfosátu (herbicidní roztok Buccaneer Plus<sup>®</sup>). Jejich testovanými živočichy byly 3 dravé druhy členovců. Konkrétně se jednalo o 2 druhy slíďáků *Pardosa milvina* (Hentz, 1844), *Tigrosa helluo* (Walckenaer, 1837) a druh střevlíka *Scarites quadriceps* Chaudoir, 1843. Slíďák *Pardosa milvina* byl vystaven látce topikálně a reziduálně. Slíďák *Tigrosa helluo* a brouk *Scarites quadriceps* byli vystaveni sloučenině (kombinace topikálně + reziduálně) (Evans et al. 2010). Přesto, že autoři testovali jiný pesticid, dokumentovali ve své práci pohyblivost pavouků a z tohoto důvodu jejich výsledky srovnáváme s našimi. Autoři testovali druhy pavouků, kteří náleží taktéž do stejné čeledi, jako náš testovaný druh (navíc 1 druh má stejný rod – *Pardosa*). Evans et al. (2010) dokumentovali aktivity pavouků a brouků (konkrétně celkovou vzdálenost, dobu strávenou lokomoční a nelokomoční aktivitou, průměrnou rychlost). Autoři ve svých výsledcích uvedli, že v případě *Pardosa milvina* u topikálního ošetření bylo zjištěno, že se pavouci pohybovali na kratší vzdálenosti, méně času strávili pohybem a více času nelokomoční aktivitou, to ale nemělo žádný efekt na rychlost. U reziduální expozice *Pardosa milvina* bylo zjištěno, že pavouci strávili méně času (asi 30 %) na straně herbicidu než na straně kontroly. Dále, že tito slíďáci strávili menší část času lokomoční aktivitou. Z hlediska vzdálenosti toho urazili méně, ale pohybovali se signifikantně rychleji na herbicidu oproti kontrole. Z parametrů v rámci aktivit u slíďáka *Tigrosa helluo* a střevlíka *Scarites quadriceps* bylo zjištěno, že herbicid ovlivnil pouze čas strávený nelokomoční aktivitou. Oba tyto druhy po vystavení herbicidu strávily více času nelokomoční aktivitou (Evans et al. 2010). V případě našeho výzkumu u adultních jedinců slíďáka druhu *Pardosa lugubris* (Walckenaer, 1802) bylo zjištěno, že testovaný insekticid imidacloprid (Confidor) oproti kontrole působil nejvíce negativně na mobilitu pavouků. Výsledky z testů provedených nejen u slíďáků druhů *Pardosa milvina* a *Tigrosa helluo*, ale i u střevlíka druhu *Scarites quadriceps* (Evans et al. 2010) lze považovat za potvrzení našich výsledků na slíďákově druhu *Pardosa lugubris*, protože Evans et al. (2010) na základě výzkumu zjistili, že všechny 3 testované druhy vykazovaly určité změny aktivity v reakci na herbicid, tzn. že nejen insekticid imidacloprid, ale i herbicid na bázi glyfosátu mají účinky na životní aspekty různých druhů pavouků, včetně druhu střevlíka.

Navíc v našem případě bylo detailnější analýzou zjištěno, že neonikotinoidy (acetamiprid, imidacloprid, thiacloprid, thiamethoxam; vyšší koncentrace) ovlivnily maximální rychlosti pavouků po 1 hodině u obou aplikací (pavouci se pohybovali pomaleji; nižší maximální rychlosti). Po 24 hodinách došlo u pavouků ke zlepšení (vyšší maximální rychlosti).

## 6.2 TENDENCE K ŠÍŘENÍ POMOCÍ VĚTRU

U pavouků je velice důležitá, jak pohyblivost, tak i produkce vláken. Pokud je tato schopnost u pavouka omezena (např. pesticidem), může to mít dopad na jeho životní aspekty. Je známo, že pavouci svá vlákna využívají k různým účelům, například k vytváření pavučin, ke spouštěcím aktivitám, při migraci (potřebná vlákna u pasivního šíření) nebo k tvorbě kokonů. Na tyto aktivity mohou mít pesticidy negativní vliv, jak potvrzuje i ve své práci Benamú et al. (2017).

Nejvíce negativní účinek ze zkoumaných látek neonikotinoidů měl přípravek Confidor (imidacloprid), který v rámci pasivního šíření se oproti kontrole nejvíce (negativně) projevil u nymfálních jedinců druhu *Phylloneta impressa* (L. Koch, 1881) a byl zde prokázán signifikantní rozdíl u topikální aplikace (viz **Tabulka 21**). U nižších koncentrací přípravků neonikotinoidů Actara (u Actary i vyšší koncentrace; thiamethoxam), Biscaya (thiacloprid) a Mospilan (acetamiprid) je z výsledků zřejmé, že neměly na ballooning pavouků signifikantní vliv. U těchto přípravků nebyly oproti kontrole prokázány signifikantní rozdíly a to v žádné testované situaci.

Samu a Vollrath (1992) se zabývali vlivem pesticidů na pavouky. Konkrétně testovali fungicidy – triadimenol (Bayfidan) a prochloraz (Sportak), insekticid – cypermethrin (Fastac) a paraffinoil (Oleo Rustica 11E). Jejich zkoumaným pavoukem byl druh křížáka *Araneus diadematus* Clerck, 1757. Látky byly na pavouky aplikovány topikálně a podávány jim byly orálně (Samu a Vollrath 1992). Autoři dokumentovali tvorbu sítí pavouků (tvorbu vláken). Testování podrobili různé typy pesticidů a jiný druh pavouka, ale z důvodu pozorování tvorby vláken (v jejich případě ke stavění sítí, v našem k ballooningu) srovnáváme naše výsledky se studií Samu a Vollrath (1992). Samu a Vollrath (1992) zkoumali vliv pesticidů na tvorbu sítě křížáka *Araneus diadematus*. Bylo zjištěno, že fungicidy (triadimenol, prochloraz) a insekticid (paraffinoil) nevykazovaly škodlivý účinek na chování *Araneus diadematus* (signifikantně neovlivnily pavouky ve stavbě sítí). Zato insekticid cypermethrin u pavouků potlačil frekvenci ve vytváření pavučin, silně ovlivnil její velikost a přesnost (Samu a Vollrath 1992). Naším výzkumem u nymfálních jedinců snovačky druhu *Phylloneta impressa* (L. Koch, 1881) bylo zjištěno,

že zkoumaný insekticid imidacloprid (Confidor) měl v porovnání s kontrolou u topikální aplikace signifikantní negativní dopad na schopnost šířit se pomocí větru. Zato u nižších koncentrací přípravků neonikotinoidů Actara (u Actary i vyšší koncentrace; thiamethoxam), Biscaya (thiacloprid) a Mospilan (acetamiprid) bylo zjištěno, že oproti kontrole neměly na ballooning pavouků vliv (nesignifikantní rozdíly). Samu a Vollrath (1992) zjistili, že použité fungicidy a insekticid (paraffinoil) nevykazovaly účinek na chování křížáka druhu *Araneus diadematus*, ale insekticid cypermethrin ano. V tomto ohledu je možné výsledky z testů provedených u křížáka druhu *Araneus diadematus* (Samu a Vollrath 1992) považovat za potvrzené našim výsledkům na snovačce druhu *Phylloneta impressa*, tzn. že každý pesticid může působit a omezovat životní aspekty pavouků.

Vlivem pesticidu na pavouky se zabývali Shaw et al. (2005), kteří konkrétně zkoumali insekticid cypermethrin. Testovali druh plachetnatky *Tenuiphantes tenuis* (Blackwall, 1852). Látky byly aplikovány na pavouky topikálně (Shaw et al. 2005). Autoři provedli dokumentace z hlediska tvorby sítí pavouků (tvorbu vláken). Testovali vliv pesticidu u jiného druhu pavouka, ale z důvodu pozorování tvorby vláken (v jejich případě ke stavění sítí, v našem k ballooningu) srovnáváme naše výsledky se studií Shaw et al. (2005). Shaw et al. (2005) zkoumali vliv insekticidu na tvorbu sítě pavouka *Tenuiphantes tenuis*. V průběhu tvoření svých plachetnatkovitých pavučin byli pavouci natáčeni kamerou. Ve svých výsledcích autoři uvedli, že pavouci vystavení insekticidu měli signifikantně pozměněný způsob stavby sítě (Shaw et al. 2005). V našem případě u nymfálních jedinců snovačky druhu *Phylloneta impressa* (L. Koch, 1881) byl zjištěn ve srovnání s kontrolou signifikantní negativní dopad imidaclopridu (Confidoru) u topikální aplikace na schopnost šířit se pomocí větru. Shaw et al. (2005) zjistili, že použitý insekticid měl vliv na tvorbu sítí pavouků. V tomto ohledu výsledky z testů provedených u plachetnatky druhu *Tenuiphantes tenuis* (Shaw et al. 2005) odpovídají našim výsledkům na snovačce druhu *Phylloneta impressa*, tzn. že nejen insekticid imidacloprid, ale i jiný insekticid – cypermethrin mají (negativní) účinky na různé druhy pavouků a omezují jejich životní aspekty.

Dalšími poznatky v rámci vlivů pesticidů na pavouky přispěli svou studií i Benamú et al. (2017), kteří testovali insekticid (subletální koncentrace) složený ze 2 účinných složek: neonikotinoid thiamethoxam a pyrethroid lambda-cyhalothrin (komerčně dostupný insekticid Geonex). Touto (kombinovanou) látkou byl v jejich případě ošetřen druh křížáka *Parawixia audax* (Blackwall, 1863) (Benamú et al. 2017). Opět, jak jsme zmínili již výše,

tito autoři dokumentovali vliv insekticidu na tvorbu sítě pavouka (tvorbu vláken) a z tohoto důvodu srovnáváme naše výsledky se studií Benamú et al. (2017). Benamú et al. (2017) u pavouků pozorovali stavby sítí. Byla provedena chemická a fyzikální měření jejich hedvábných vláken z důvodu otestování, jestli se změnily v důsledku vystavení insekticidům jejich mechanické vlastnosti, nanostruktury anebo složení aminokyselin. Ve svých výsledcích autoři uvedli, že kontrolní skupina pavouků měla v průběhu prvních 24 hodin experimentu postavené všechny sítě. Zatímco pavouci vystavení insekticidu nepostavili sítě; vytvořit pavučinu jim trvalo přibližně o 48 hodin déle. Pavouci, kteří byli vystavení insekticidu, stavěli nepravidelné sítě, které postrádaly spirálová vlákna. U kontrolní skupiny pavouků byla hedvábná vlákna silnější, pevnější a roztažitelnější než u pavouků vystavených insekticidu. U ošetřených křížáků došlo k narušení vlastností velkých ampulovitých hedvábných vláken pavouků. Signifikantně ovlivněny byly mechanické vlastnosti, nanostruktury a složení aminokyselin hedvábných vláken v případě ošetřených pavouků (Benamú et al. 2017). Benamú et al. (2017) tedy zjistili, že složený insekticid měl vliv na stavby sítí pavouků. V našem případě u nymfálních jedinců snovačky druhu *Phylloneta impressa* (L. Koch, 1881) bylo zjištěno, že testovaný insekticid imidacloprid (Confidor) v porovnání s kontrolou měl u topikální aplikace signifikantní negativní dopad na šíření se pomocí větru. V tomto případě výsledky z testů provedených u křížáka druhu *Parawixia audax* (Benamú et al. 2017) odpovídají našim výsledkům na snovačce druhu *Phylloneta impressa*, tzn. že nejen insekticid imidacloprid, ale i jiný insekticid mají (negativní) účinky na životní aspekty křížáků a snovaček. Navíc jsme zjistili, že u nižší koncentrace přípravku neonikotinoиду Actara (u Actary i vyšší koncentrace; thiamethoxam) neměla na ballooning snovaček vliv (oproti kontrole nebyly prokázány signifikantní rozdíly). Benamú et al. (2017) testovali insekticid složený z neonikotinoиду thiamethoxamu a pyrethroidu lambda-cyhalothrinu. Dále jsme zjistili, že nižší koncentrace přípravků Biscaya (thiacloprid) a Mospilan (acetamiprid) neměly vliv na ballooning snovaček (oproti kontrole nebyly prokázány signifikantní rozdíly).

Vlivem pesticidů na tvorby sítí pavouků se zabývali i Lengwiler a Benz (1994), kteří konkrétně testovali insekticidy (subletální účinky) Alaxon<sup>®</sup> D (diazinon), Decis<sup>®</sup> (deltamethrin), Kelthane<sup>®</sup> EC (dicofol) a Pirimor<sup>®</sup> (pirimicarb). Těmito látkami byli ošetřeni křížáci druhu *Larinioides sclopetarius* (Clerck, 1757) (Lengwiler a Benz 1994). Autoři dokumentovali tvorby sítí pavouků (tvorbu vláken). Testování podrobili různé typy pesticidů a jiný druh pavouka, ale z důvodu pozorování tvorby vláken (v jejich případě



ke stavění sítí, v našem k ballooningu) srovnáváme naše výsledky se studií Lengwiler a Benz (1994). Lengwiler a Benz (1994) ve svých výsledcích uvedli, že aktivity v tvorbách sítí byly u křížáků vlivem Alaxonu (diazinon) ovlivněny jen nepatrně (tedy pouze plocha sítí byla signifikantně zmenšena – na 62 % původní velikosti). Dále u Decisu (deltamethrin) bylo zjištěno, že stavby sítí pavouků byly ovlivněny. Došlo ke zpoždění ve vytváření sítí křížáků (2,32 dnů), sítě dosáhly pouze 72 % normální velikosti. Vlivem Kelthanu (dicofol) nebyly ovlivněny stavby sítí křížáků (jen snížený počet poloměrů první sítě po ošetření (signifikantní rozdíl). U Pirimoru (pirimicarb) bylo zjištěno, že vytváření sítí pavouků nebylo ovlivněno (žádné změny u frekvence ve stavbách sítí, sítě nebyly narušeny) (Lengwiler a Benz 1994). Ve své práci Lengwiler a Benz (1994) uvedli, že různé pesticidy mají různé účinky na sítě pavouků. Naším výzkumem u nymfálních jedinců snovačky druhu *Phylloneta impressa* (L. Koch, 1881) bylo zjištěno, že v porovnání s kontrolou měl u topikální aplikace signifikantní negativní dopad imidacloprid (Confidor) na ballooning. Navíc v našem případě bylo zjištěno, že u nižších koncentrací přípravků neonikotinoidů Actara (u Actary i vyšší koncentrace; thiamethoxam), Biscaya (thiacloprid) a Mospilan (acetamiprid), neměly na pasivní šíření snovaček vliv (oproti kontrole nebyly prokázány signifikantní rozdíly). Výsledky z testů provedených u křížáka druhu *Larinioides sclopetarius* (Lengwiler a Benz 1994) lze považovat za potvrzení našich výsledků na snovačce druhu *Phylloneta impressa*, tzn. že tyto insekticidy mohou mít (negativní) nebo i žádné účinky na pavouky a jejich životní aspekty.

### 6.3 MORTALITA

U testovaných pavouků byla vyhodnocena i procentuální mortalita, a to konkrétně u adultních jedinců druhu *Pardosa lugubris* (Walckenaer, 1802), nymfálních jedinců druhu *Phylloneta impressa* (L. Koch, 1881) a u nymfálních jedinců druhu *Pardosa lugubris* (Walckenaer, 1802). V případě nymfálních jedinců *Phylloneta impressa* bylo zjištěno, že neonikotinoidy (v porovnání s kontrolou) nezpůsobily u těchto pavouků letální účinky. Stejně tak i u adultních jedinců druhu *Pardosa lugubris* bylo zjištěno, že testované neonikotinoidy (ve srovnání s kontrolou) ve výrazné většině případů nezpůsobily u pavouků letální účinky. Naopak u nymfálních jedinců druhu *Pardosa lugubris* bylo zjištěno, že neonikotinoidy (oproti kontrole) způsobily letální účinky u těchto pavouků, a to zejména přípravek Confidor (imidacloprid), který způsobil výraznou mortalitu u pavouků (u tarzální aplikace způsobil dokonce 100% úmrtnost). Tato neobvykle vysoká úmrtnost může být nicméně způsobena v důsledku sběru vzorků v různých ročních

obdobích (nymfální jedinci druhu *Pardosa lugubris* byli sbíráni v letních měsících), kdy mohli být již v kontaktu s jinými v zemědělství užívanými pesticidy (jejichž aplikace právě v letních měsících probíhá).

Pekár a Beneš (2008) se zaměřili na vliv pesticidů na pavouky (2 insekticidy Decis a Nurelle, herbicid Command). Pavouci byli v kontaktu s rezidui pesticidů (čerstvá, stará). Zjistili, že všechna rezidua u insekticidní látky Nurelly způsobila v podstatě 100% mortalitu, a to u juvenilních jedinců druhů *Dictyna uncinata* Thorell, 1856, *Pardosa palustris* (Linnaeus, 1758), *Philodromus cespitum* (Walckenaer, 1802) a *Phylloneta impressa* (L. Koch, 1881). Command způsobil u všech pavouků poměrně zanedbatelnou mortalitu. Rezidua u Decisu měla druhově specifické účinky (mortalita kolísala mezi 0 % a 90 %) (Pekár a Beneš 2008). V našem případě bylo zjištěno, že u nymfálních jedinců *Phylloneta impressa* (L. Koch, 1881) a u adultních jedinců druhu *Pardosa lugubris* (Walckenaer, 1802) neonikotinoidy (oproti kontrole) nezpůsobily u těchto pavouků letální účinky. Naopak u nymfálních jedinců druhu *Pardosa lugubris* (Walckenaer, 1802) bylo zjištěno, že neonikotinoidy (v porovnání s kontrolou) způsobily letální účinky u pavouků, a to zejména přípravek Confidor (imidacloprid), který způsobil výraznou mortalitu u pavouků (u tarzální aplikace způsobil 100% úmrtnost pavouků). Náš poznatek dopadu přípravku Confidoru u nymfálních jedinců druhu *Pardosa lugubris* je tedy dalším dokladem, že insekticidy mohou u pavouků způsobit až 100% mortalitu.

Vetter et al. (2016) testovali různé pesticidy (na bázi vody a oleje), mezi testovanými látkami byl i imidacloprid. Autoři se zaměřili na dopad imidaclopridu na kokony snovačky druhu *Latrodectus geometricus* C. L. Koch, 1841. Zjistili, že vajíčka v testovaných kokonech, které byly ošetřené, vykazovala 78% úmrtnost. Čím je kokon „mladší“, tím je látka účinnější (Vetter et al. 2016). My jsme studovali jiný druh snovačky, konkrétně nymfy *Phylloneta impressa* (L. Koch, 1881), u které jsme z hlediska mortality nezjistily letální účinky neonikotinoidů (v porovnání s kontrolou). To samé bylo i v případě adultních jedinců *Pardosa lugubris* (Walckenaer, 1802). Naopak u nymfálních jedinců druhu *Pardosa lugubris* (Walckenaer, 1802) byly zjištěny letální účinky způsobené neonikotinoidy (oproti kontrole). Zejména přípravek Confidor (imidacloprid), který způsobil výraznou mortalitu u pavouků (u tarzální aplikace způsobil 100% úmrtnost pavouků).

Do budoucna je důležité brát v potaz a případně provádět další výzkumy nejen v laboratorních podmínkách, ale též i v terénních. Výzkumem v terénu se například

zabývali Mazzia et al. (2020). Provedli testy s křížákem druhu *Araneus diadematus* Clerck, 1757, který byl vystaven insekticidu spinosadu (Success4<sup>®</sup>) v sadu. Zjistili, že insekticid působil na pavouky škodlivě. Došlo k dramatickým změnám jejich chování – nedokončené sítě, neobvyklé umístění (pouze ale po dobu až 3 dnů po aplikaci). Poté byl průměrný počet sítí nízký (minimálně po dobu 14 dnů). Bylo zjištěno, že škodlivé účinky spinosadu jsou hlavně krátkodobé (v řádu několika dnů), ale ovlivnil stavby sítí u *Araneus diadematus* a může také ovlivnit kondici pavouka v dlouhodobějším časovém horizontu. Na základě pozorování autoři zjistili, že někteří pavouci nebyli schopní se pohybovat (pravděpodobně spinosad měl vliv na nervové přenosy pavouků). Po pár dnech bylo u pavouků vypořádáno zlepšení (pohyb, vytváření nových sítí) (Mazzia et al. 2020). I Khan (2012) provedl svůj výzkum v terénu, konkrétně v jablečném sadu. Z ošetřených a neošetřených sadů byli sbíráni pavouci. Ve své publikaci autor uvedl, že v případě vysokého použití insekticidu byla rozmanitost a hojnost pavouků nižší než v případě nízkého nebo žádného použití insekticidu (Khan 2012). Další autoři, kteří přispěli svými výzkumy v terénu, například v sadu (Amalin et al. 2001; Pekár 1998; Pekár a Kocourek 2004), na poli (Haughton et al. 1999; Sankari a Thiyagesan 2010), ale i v laboratoři i na poli (Sherawat et al. 2015; Tanaka et al. 2000).

## 7 ZÁVĚR

Výzkumem k této práci bylo zjištěno, že ve srovnání s kontrolou působil z testovaných přípravků výrazně negativně přípravek Confidor® 200 OD. Bylo zjištěno, že přípravek Confidor ovlivnil mobilitu u adultních jedinců druhu *Pardosa lugubris* (Walckenaer, 1802) (signifikantní rozdíly) a tendenci k šíření pomocí větru (tzv. ballooning) v případě nymfálních jedinců druhu *Phylloneta impressa* (L. Koch, 1881) (signifikantní rozdíly u topikální aplikace). V těchto případech byla snížena mobilita a schopnost pasivního šíření modelových druhů pavouků. Z předložených výsledků je patrné, že ze všech látek ve srovnání s kontrolou měl výrazný negativní dopad na mobilitu pavouků přípravek Confidor, čímž se první hypotéza potvrdila. Navíc detailnější analýzou bylo zjištěno, že pavouci ošetření neonikotinoidy se pohybovali pomaleji po 1 hodině. Druhá hypotéza se týkala tendence k šíření pomocí větru, na kterou měl oproti kontrole nejvíce negativní dopad u topikální aplikace přípravku Confidor. Druhou hypotézu je možné také potvrdit. Podařilo se tak potvrdit obě hypotézy, které předpokládaly, že pavouci po kontaktu s pesticidními přípravky by měli konat pomalejší a méně koordinovaný pohyb, a že u pavouků bude snížena schopnost chování vedoucího k migraci za pomoci větru, tzv. ballooning. Detailnější analýzou provedenou u lokomoce bylo zjištěno, že všechny testované přípravky neonikotinoidů, konkrétně tedy Actara® 25 WG, Biscaya® 240 OD, Confidor® 200 OD a Mospilan® 20 SP (zejména vyšší koncentrace), ovlivnily mobilitu u adultních jedinců druhu *Pardosa lugubris* již po 1 hodině u topikální i tarzální aplikace. Pavouci se tedy pohybovali pomaleji (nízké maximální rychlosti). Nicméně se ukázalo, že účinky přípravků neonikotinoidů u adultních jedinců druhu *Pardosa lugubris* trvají jen po určitou dobu a jejich působení postupně odeznívá. Po 24 hodinách totiž došlo u pavouků ke zlepšení lokomoce, tzn. že pavouci se pohybovali rychleji (vyšší maximální rychlosti). Je tedy možné, že neonikotinoidy mohou mít na tento druh pavouka krátkodobé účinky. Detailnější analýzou zaměřenou na zjištění, zda neonikotinoidy mají na mobilitu adultních jedinců *Pardosa lugubris* účinek při topikální nebo tarzální aplikaci, nebyl účinek ve výrazné většině případů signifikantně prokázán (až na pár výjimek). Stejně tak tomu bylo i u odlišného účinku v rámci uražených vzdáleností pavouků po 1 hodině, respektive po 24 hodinách (signifikantní rozdíly jen v několika případech, přičemž v některých případech došlo ke zlepšení a v některých ke zhoršení). V rámci mortality bylo zjištěno, že neonikotinoidy nezpůsobily letální účinky v případě adultních jedinců *Pardosa lugubris* a nymfálních jedinců *Phylloneta impressa*.

Letální účinky ale způsobily neonikotinoidy u nymfálních jedinců *Pardosa lugubris*, a to zejména přípravek Confidor. Podařilo se zjistit, že přípravek Confidor má ze všech testovaných látek nejsilnější negativní vliv, jelikož způsoboval u nymfálních jedinců druhu *Pardosa lugubris* nejvyšší mortalitu (i 100% u tarzální aplikace).

Pro budoucí výzkumy je třeba brát v potaz stav pavouků (nakrmený nebo vyhladovělý), jestli mohl být pavouk již před sběrem v přírodě v kontaktu s některou pesticidní látkou, a to buď v přímém kontaktu, nebo v nepřímém kontaktu, pohlaví pavouka, stádium života pavouka, případně i podmínky, ze kterých pochází (pole x strom) a tak dále. Navíc by se mělo dle Řezáč et al. (2010) testovat i více druhů pavouků. Existují i výzkumy zaměřené například na pavouky, kteří pozřeli ošetřenou kořist (viz studie Benamú et al. 2007; Benamú et al. 2010; Benamú et al. 2013; Korenko et al. 2019). Stejně tak záleží na daném pesticidu, včetně jeho vlastností a koncentrace. Je tedy potřeba provádět další výzkumy, které budou zohledňovat tyto aspekty.

## 8 LITERATURA

Amalin, D. M., Peña, J. E., Mcsorley, R., Browning, H. W. a Crane, J. H. 2001. Comparison of Different Sampling Methods and Effect of Pesticide Application on Spider Populations in Lime Orchards in South Florida. *Environmental Entomology*, 30(6), 1021–1027.

Anonymus. 2020a: Neonikotinoidy. Online: <http://www.ncceh.ca/environmental-health-in-canada/health-agency-projects/neonicotinoid-pesticides> (Navštíveno 10. 11. 2020).

Anonymus 2020b. Actara<sup>®</sup> 25 WG. Online: [https://www.agromanual.cz/download/pdf\\_etiketa/e\\_actara\\_25\\_wg.pdf](https://www.agromanual.cz/download/pdf_etiketa/e_actara_25_wg.pdf) (Navštíveno 19. 11. 2020).

Anonymus 2020c. Biscaya<sup>®</sup> 240 OD. Online: [https://www.agromanual.cz/download/pdf\\_etiketa/e\\_biscaya\\_240\\_od.pdf](https://www.agromanual.cz/download/pdf_etiketa/e_biscaya_240_od.pdf) (Navštíveno 19. 11. 2020).

Anonymus 2020d. Confidor<sup>®</sup> 200 OD. Online: Dostupné na: <https://www.agromanual.cz/cz/pripravky/insekticidy/insekticid/confidor-200-od> (Navštíveno 19. 11. 2020).

Anonymus 2020e. Mospilan<sup>®</sup> 20 SP. Online: <https://www.vinarskepotreby.cz/out/media/e1153716-b559-4a4f-919b-460697340f2a.pdf> (Navštíveno 19. 11. 2020).

Bass, Ch. a Field, L. M. 2018. Neonicotinoids. *Current Biology*, 28, R761–R783.

Beketov, M. A. a Liess, M. 2008. Acute and Delayed Effects of the Neonicotinoid Insecticide Thiacloprid on Seven Freshwater Arthropods. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27(2), 461–470.

Belzunces, L. P., Tchamitchian, S. a Brunet, J.-L. 2012. Neural effects of insecticides in the honey bee. *Apidologie*, 43(3), 348–370.

Benamú, M. A., Schneider, M. I., Pineda, S., Sánchez, N. E. a Gonzalez, A. 2007. Sublethal effects of two neurotoxic insecticides on *Araneus pratensis* (Araneae: Araneidae). *Communications in agricultural and applied biological sciences*, 72(3), 557–559.

Benamú, M. A., Schneider, M. I. a Sánchez, N. E. 2010. Effects of the herbicide glyphosate on biological attributes of *Alpaida veniliae* (Araneae, Araneidae), in laboratory. *Chemosphere*, 78(7), 871–876.

Benamú, M. A., Schneider, M. I., González, A. a Sánchez, N. E. 2013. Short and long-term effects of three neurotoxic insecticides on biological and behavioural attributes of the orb-web spider *Alpaida veniliae* (Araneae, Araneidae): implications for IPM programs. *Ecotoxicology*, 22(7), 1155–1164.

Benamú, M., Lacava, M., García, L. F., Santana, M., Fang, J., Wang, X. a Blamires, S. J. 2017. Nanostructural and mechanical property changes to spider silk as a consequence of insecticide exposure. *Chemosphere*, 181, 241–249.

Biological Library 2020: Biological Library. Online: <https://www.biolib.cz/cz/> (Navštíveno 14. 3. 2021).

Blacquièrè, T., Smaghe, G., Van Gestel, C. A. M. a Mommaerts, V. 2012. Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, side-effects and risk assessment. *Ecotoxicology*, 21(4), 973–992.

Boháč, J., Moudrý, J. a Desetová, L. 2007. Biodiverzita a zemědělství. *Životní Prostředí*, 41(1), 24–29.

Botías, C., David, A., Horwood, J., Abdul-Sada, A., Nicholls, E., Hill, E. a Goulson, D. 2015. Neonicotinoid Residues in Wildflowers, a Potential Route of Chronic Exposure for Bees. *Environmental Science & Technology*, 49(21), 12731–12740.

Brandt, A., Gorenflo, A., Siede, R., Meixner, M. a Büchler, R. 2016. The neonicotinoids thiacloprid, imidacloprid, and clothianidin affect the immunocompetence of honey bees (*Apis mellifera* L.). *Journal of Insect Physiology*, 86, 40–47.

Buchar, J. a Kůrka, A. 1998. *Naši pavouci*. Academia, 154 s. Praha.

Buchar, J. 2013. Slíďáci a česká arachnologie I. *Živa*, 61(4), 184–188.

Büchs, W., Ikonov, A., VukicaVujić, Prescher, S., Sivčev, I., Sivčev, L., Graora, D., Čuljak, T. G., Juran, I., Tomić, V. a Dudić, B. 2018. Pyrethroid insecticides in oilseed rape – are they responsible for morphological variations of *Oedothorax apicatus* Blackwall, 1850 (Araneae: Linyphiidae)? *Integrated Control in Oilseed Crops, IOBC-WPRS Bulletin*, 136, 128–129.

Buszewski, B., Bukowska, M., Ligor, M. a Staneczko-Baranowska, I. 2019. A holistic study of neonicotinoids neuroactive insecticides—properties, applications, occurrence, and analysis. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(34), 34723–34740.

Butt, A., Talib, R. a Khan, M. X. 2019. Effects of Insecticides on the Functional Response of Spider *Oxyopes javanus* against Aphid *Sitobion avenae*. *International Journal of Agriculture & Biology*, 22, 503–509.

Cardoso, P., Pekár, S., Jocqué, R. a Coddington, J. A. 2011. Global Patterns of Guild Composition and Functional Diversity of Spiders. *PLoS ONE*, 6(6), e21710.

Cremllyn, R. J. W. 1978. *Pesticides. (Preparation and mode of action)*. John Wiley & Sons, 244 s. New York.

CropScience 2020: Thiacloprid. Online: <https://www.cropscience.bayer.cz/cs/vyhledavani.php?q=thiacloprid> (Navštíveno 6. 11. 2020).

Čermáková, M. a Parkanová, L. 2015. Včely ve městě – postřehy nejen z London School of Economics. Města v rozvoji. *Ekumenická akademie*, 25–31.

De Lima e Silva, C., Brennan, N., Brouwer, J. M., Commandeur, D., Verweij, R. A. a Van Gestel, C. A. M. 2017. Comparative toxicity of imidacloprid and thiacloprid to different species of soil invertebrates. *Ecotoxicology*, 26(4), 555–564.



De Lima e Silva, C., De Rooij, W., Verweij, R. A. a Van Gestel, C. A. M. 2020. Toxicity in Neonicotinoids to *Folsomia candida* and *Eisenia andrei*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 39(3), 548–555.

Dworzańska, D., Moores, G., Zamojska, J., Strażyński, P. a Węgorek, P. 2020. The influence of acetamiprid and deltamethrin on the mortality and behaviour of honeybees (*Apis mellifera carnica* Pollman) in oilseed rape cultivations. *Apidologie*, 51(6), 1143–1154.

ECHA 2020a: ECHA. Online: <https://echa.europa.eu/cs/information-on-chemicals/biocidal-products> (Navštíveno 26. 11. 2020).

ECHA 2020b: ECHA. Online: <https://echa.europa.eu/cs/information-on-chemicals/biocidal-active-substances> (Navštíveno 26. 11. 2020).

Eng, M. L., Stutchbury, B. J. M. a Morrissey, Ch. A. 2019. A neonicotinoid insecticide reduces fueling and delays migration in songbirds. *Science*, 365(6458), 1177–1180.

Epa 2020. Neonikotinoidy. Online: <https://www.epa.gov/pollinator-protection/schedule-review-neonicotinoid-pesticides> (Navštíveno 12. 11. 2020).

EUR-Lex 2020. EUR-Lex. Online: [https://eur-lex.europa.eu/eli/reg\\_impl/2013/485/oj#ntr2-L\\_2013139EN.01001201-E0002](https://eur-lex.europa.eu/eli/reg_impl/2013/485/oj#ntr2-L_2013139EN.01001201-E0002) (Navštíveno 30. 11. 2020).

Evans, S. C., Shaw, E. M. a Rypstra, A. L. 2010. Exposure to a glyphosate-based herbicide affects agrobiont predatory arthropod behaviour and long-term survival. *Ecotoxicology*, 19(7), 1249–1257.

Fairbrother, A., Purdy, J., Anderson, T. a Fell, R. 2014. Risks of Neonicotinoid Insecticides to Honeybees. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 33(4), 719–731.

Farag, N. A. a Gesraha, M. A. 2007. Impact of Four Insecticides on the Parasitoid Wasp, *Diaertiella rapae* and its Host Aphid, *Brevicoryne brassicae* under Laboratory Conditions. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 3(5), 529–533.

Garczyńska, M., Pączka, G., Mazur-Pączka, A. a Kostecka, J. 2018. Earthworms in Short-Term Contact with a Low Dose of Neonicotinoid Actara 25WG. *Journal of Ecological Engineering*, 19(3), 93–101.

Gibbons, D., Morrissey, Ch. a Mineau, P. 2015. A review of the direct and indirect effects of neonicotinoids and fipronil on vertebrate wildlife. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(1), 103–118.

Goulson, D. 2013. An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. *Journal of Applied Ecology*, 50(4), 977–987.

Goulson, D., Nicholls, E., Botías, C. a Rotheray, E. L. 2015. Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. *Science*, 347(6229), 1–16.

Hashimi, M. H., Hashimi, R. a Ryan, Q. 2020. Toxic Effects of Pesticides on Humans, Plants, Animals, Pollinators and Beneficial Organisms. *Asian Plant Research Journal*, 5(4), 37–47.

Haughton, A. J., Bell, J. R., Boatman, N. D. a Wilcox, A. 1999. The Effects of Different Rates of the Herbicide Glyphosate on Spiders in Arable Field Margins. *The Journal of Arachnology*, 27(1), 249–254.

Heimer, S. a Nentwig, W. 1991. *Spinnen Mitteleuropas: Ein Bestimmungsbuch*. Verlas Paul Parey, 543 s. Berlin und Hamburg.

Hilton, M. J., Jarvis, T. D. a Ricketts, D. C. 2016. The degradation rate of thiamethoxam in European field studies. *Pest Management Science*, 72(2), 388–397.

Hopwood, J., Vaughan, M., Shepherd, M., Biddinger, D., Mader, E., Black, S. H. a Mazzacano, C. 2012. *Are Neonicotinoids Killing Bees? A Review of Research into the Effects of Neonicotinoid Insecticides on Bees, with Recommendations for Action*. The Xerces Society for Invertebrate Conservation, 32 s. USA.

Hussain, S., Hartley, C. J., Shettigar, M. a Pandey, G. 2016. Bacterial biodegradation of neonicotinoid pesticides in soil and water systems. *FEMS Microbiology Letters*, 363(23), 1–13.

Chen, X., Xiao, Y., Wu, L., Chen, Y. a Peng, Y. 2012. Imidacloprid Affects *Pardosa Pseudoannulata* Adults and Their Unexposed Offspring. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 88(5), 654–658.

Jacob, C. R. O., Malaquias, J. B., Zanardi, O. Z., Silva, C. A. S., Jacob, J. F. O. a Yamamoto, P. T. 2019. Oral acute toxicity and impact of neonicotinoids on *Apis mellifera* L. and *Scaptotrigona postica* Latreille (Hymenoptera: Apidae). *Ecotoxicology*, 28(7), 744–753.

Jiménez-López, J., Llorent-Martínez, E. J., Ortega-Barrales, P. a Ruiz-Medina, A. 2020. Analysis of neonicotinoid pesticides in the agri-food sector: a critical assessment of the state of the art. *Applied Spectroscopy Reviews*, 55(8), 613–646.

Jocqué, R. a Alderweireldt, M. 2005. Lycosidae: the grassland spiders. *Acta Zoologica Bulgarica*, 1, 125–130.

Jelínek, A. 2015. *Nápadní pavouci Národního parku Podyjí*. Správa Národního parku Podyjí ve spolupráci se ZO Českého svazu ochránců přírody Kněžice, 11 s. Kněžice.

Khan, A. A. 2012. Comparison of spider diversity in relation to pesticide use in apple orchards of Kashmir. *Journal of Biological Control*, 26(1), 1–10.

Kloutvorová 2018. Česká technologická platforma rostlinných biotechnologií. Online: <http://www.rostlinyprobudoucnost.eu/ctprb/novinky/zajimavosti/79-neonikotinoidy-ochrana-vcel.html> (Navštíveno 15. 11. 2020).

Kloutvorová, J., Skalský, M., Ouředníčková, J., Hortová, B., Vejražka, K., Kolařík, P., Komzáková, O., Titěra, D., Vinšová, H., Horna, A., Hornová, M., Plecháčová, I., Šafaříková, L., Eichlerová, E. Dvořáková, R. a Voříšek, V. 2018. *Metodika ochrany ovoce proti škůdcům s důrazem na ochranu hmyzích opylovačů*. Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o., 111 s. Holovousy.

Komínková, D. 2008. *Ekotoxikologie*. České vysoké učení technické, 156 s. Praha.

Korenko, S., Saska, P., Kysilková, K., Řezáč, M. a Heneberg, P. 2019. Prey contaminated with neonicotinoids induces feeding deterrent behavior of a common farmland spider. *Scientific Reports*, 9(15895), 1–8.

Korenko, S., Sýkora, J., Řezáč, M. a Heneberg, P. 2020. Neonicotinoids suppress contact chemoreception in a common farmland spider. *Scientific Reports*, 10(7019), 1–8.

Kubátová, H. 2018. *Průmyslová toxikologie a životní prostředí*. SPBI Spektrum (Sdružení požárního a bezpečnostního inženýrství), 122 s. Ostrava.

Kůrka, A., Řezáč, M., Macek, R. a Dolanský, J. 2015. *Pavouci České republiky*. Academia, 621 s. Praha.

Laetz, C. A., Baldwin, D. H., Collier, T. K., Hebert, V., Stark, J. D. a Scholz, N. L. 2009. The Synergistic Toxicity of Pesticide Mixtures: Implications for Risk Assessment and the Conservation of Endangered Pacific Salmon. *Environmental Health Perspectives*, 117(3), 348–353.

Lengwiler, U. a Benz, G. 1994. Effects of selected pesticides on web building behaviour of *Larinioides sclopetarius* (Clerck) (Araneae, Araneidae). *Journal of Applied Entomology*, 117, 99–108.

Linhart, I. 2019. *Základní pojmy v toxikologii, ekologii a ekotoxikologii/Basic terms in toxicology, ecology and ecotoxicology*. Vysoká škola chemicko-technologická, 141 s. Praha.

Mahmood, I., Imadi, S. R., Shazadi, K., Gul, A. a Hakeem, K. R. 2016. Effects of Pesticides on Environment. *Plant, Soil and Microbes, Springer International Publishing Switzerland*, 253–269.

Maienfish, P., Angst, M., Brandl, F., Fischer, W., Hofer, D., Kayser, H., Kobel, W., Rindlisbacher, A., Senn, R., Steinemann, A. a Widmer, H. 2001. Chemistry and biology of thiamethoxam: a second generation neonicotinoid†. *Pest Management Science*, 57(10), 906–913.

Mazzia, Ch., Capowiez, Y., Marliac, G., Josselin, D. a Pasquet, A. 2020. Spinosad application in an apple orchard affects both the abundance of the spider *Araneus diadematus* and its web construction behaviour. *Ecotoxicology*, 29(4), 389–397.

Michalková, V. a Pekár, S. 2009. How glyphosate altered the behaviour of agrobiont spiders (Araneae: Lycosidae) and beetles (Coleoptera: Carabidae). *Biological Control*, 51(3), 444–449.

Mohammed, A. A. A. H., Desneux, N., Fan, Y., Han, P., Ali, A., Song, D. a Gao, X.-W. 2018. Impact of imidacloprid and natural enemies on cereal aphids: Integration or ecosystem service disruption? *Entomologia Generalis*, 37(1), 047–061.

Morrissey, Ch. A., Mineau, P., Devries, J. H., Sanchez-Bayo, F., Liess, M., Cavallaro, M. C. a Liber, K. 2015. Neonicotinoid contamination of global surface waters and associated risk to aquatic invertebrates: A review. *Environment International*, 74, 291–303.

Nentwig, W., Blick, T., Bosmans, R., Gloor, D., Hänggi, A. a Kropf, Ch. 2020a. Spiders of Europe. Online: <https://araneae.nmbe.ch/> (Navštíveno 8. 12. 2020).

Nentwig, W., Blick, T., Bosmans, R., Gloor, D., Hänggi, A. a Kropf, Ch. 2020b. Spiders of Europe. Online: [https://araneae.nmbe.ch/data/820/Pardosa\\_lugubris](https://araneae.nmbe.ch/data/820/Pardosa_lugubris) (Navštíveno 8. 12. 2020).

Nentwig, W., Blick, T., Bosmans, R., Gloor, D., Hänggi, A. a Kropf, Ch. 2020c. Spiders of Europe. Online: [https://araneae.nmbe.ch/data/560/Phylloneta\\_impressa](https://araneae.nmbe.ch/data/560/Phylloneta_impressa) (Navštíveno 8. 12. 2020).

Nikonorow, M., Bankowska, J., Cwierniewska, E., Urbanek-Karłowska, B. a Luczak, J. 1983. *Pesticídy a toxicita prostredia*. Příroda, Ochrana přírody, 203 s. Bratislava.

Otesbelgue, A., F. dos Santos, Ch. a Blochtein, B. 2018. Queen bee acceptance under threat: Neurotoxic insecticides provoke deep damage in queen-worker relationships. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 166, 42–47.

Pamminger, T., Botías, Ch., Goulson, D. a Hughes, W. O. H. 2018. A mechanistic framework to explain the immunosuppressive effects of neurotoxic pesticides on bees. *Functional Ecology*, 32(8), 1921–1930.

Panáček, A. a Balzerová, A. 2013. *Základy toxikologie a ekotoxikologie*. Univerzita Palackého, 70 s. Olomouc.

Pang, S., Lin, Z., Zhang, W., Mishra, S., Bhatt, P. a Chen, S. 2020. Insights Into the Microbial Degradation and Biochemical Mechanisms of Neonicotinoids. *Frontiers in Microbiology*, 11(868), 1–20.

Paulov, Š. 1984. *Interakcie pesticídov s cieľovými živočíchmi a životné prostredie*. Slovenská akadémia vied, 124 s. Bratislava.

Pavlíková, D., Pavlík, M., Matěju, L. a Balík, J. 2008. *Ekotoxikologie* (2., dopl. a přeprac. vyd). Česká zemědělská univerzita, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, 171 s. Praha.

Pekár, S. 1998. Effect of selective insecticides on the beneficial spider community of a pear orchard in the Czech Republic. In *Proceedings of the 17th European colloquium of arachnology, Edinburgh* (1997, 338–342). BAS, Burnham Beeches.

Pekár, S. a Kocourek, F. 2004. Spiders (Araneae) in the biological and integrated pest management of apple in the Czech Republic. *Journal of Applied Entomology*, 128(8), 561–566.

Pekár, S. a Beneš, J. 2008. Aged pesticide residues are detrimental to agrobiont spiders (Araneae). *Journal of Applied Entomology*, 132(8), 614–622.

Pekár, S. 2012. Spiders (Araneae) in the pesticide world: an ecotoxicological review. *Pest Management Science*, 68(11), 1438–1446.

Pekár, S. 2013. Side Effect of Synthetic Pesticides on Spiders. 415–427. In Nentwig, W., (ed.) *Spider Ecophysiology*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

Pétilon, J., Deruytter, D., Decae, A., Renault, D. a Bonte, D. 2012. Habitat use, but not dispersal limitation, as the mechanism behind the aggregated population structure of the mygalomorph species *Atypus affinis*. *Animal Biology*, 62(2), 181–192.

Pfiffner, L. a Balmer, O. 2010. Ekologické zemědělství a biodiverzita. *Bioinstitut*, 1–4.

Pisa, L. W., Amaral-Rogers, V., Belzunces, L. P., Bonmatin, J. M., Downs, C. A., Goulson, D., Kreutzweiser, D. P., Krupke, C., Liess, M., McField, M., Morrissey, C. A., Noome, D. A., Settele, J., Simon-Delso, N., Stark, J. D., Van der Sluijs, J. P., Van Dyck, H. a Wiemers, M. 2015. Effects of neonicotinoids and fipronil on non-target invertebrates. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(1), 68–102.

Riah, W., Laval, K., Laroche-Ajzenberg, E., Mougin, Ch., Latour, X. a Trinsoutrot-Gattin, I. 2014. Effects of pesticides on soil enzymes: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 12(2), 257–273.

Řezáč, M., Pekár, S. a Stará. J. 2010. The negative effect of some selective insecticides on the functional response of a potential biological control agent, the spider *Philodromus cespitum*, *BioControl*, 55(4), 503–510.

Roberts, M. J. 1995. *Spiders of Britain and Northern Europe (Collins Field Guide)*. HarperCollins Publishers, 384 s. London.

Saaristo, M. I. 2006. Theridiid or cobweb spiders of the granitic Seychelles islands (Araneae, Theridiidae). *Phelsuma*, 14(1), 49–89.

Salameh, P. R., Baldi, I., Brochard, P., a Saleh, B. A. 2004. Pesticides in Lebanon: a knowledge, attitude, and practice study. *Environmental Research*, 94(1), 1–6.

Samu, F. a Vollrath, F. 1992. Spider orb web as bioassay for pesticide side effects. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 62(2), 117–124.

Sanchez-Bayo, F. a Goka, K. 2014. Pesticide Residues and Bees – A Risk Assessment. *PLoS ONE*, 9(4), e94482.

Sankari, A. a Thiyagesan, K. 2010. Population and predatory potency of spiders in brinjal and snake-gourd. *Journal of Biopesticides*, 3(1), 028–032.

Shaw, E. M., Wheeler, C. P. a Langan, A. M. 2005. The effects of cypermethrin on *Tenuiphantes tenuis* (Blackwall, 1852): development of a technique for assessing the impact of pesticides on web building in spiders (Araneae: Linyphiidae). *Acta Zoologica Bulgarica*, 1, 173–179.

Shaw, E. M., Waddicor, M. a Langan, A. M. 2006. Impact of cypermethrin on feeding behaviour and mortality of the spider *Pardosa amentata* in arenas with artificial ‘vegetation’. *Pest Management Science*, 62(1), 64–68.

Sherawat, S. M., Butt, A. a Tahir, H. M. 2015. Effects of Pesticides on Agrobiont Spiders in Laboratory and Field. *Pakistan Journal of Zoology*, 47(4), 1089-1095.

Stanley, J. a Preetha, G. 2016. *Pesticide Toxicity to Non-target Organisms (Exposure, Toxicity and Risk Assessment Methodologies)*. Springer Science+Business Media, 502 s. Dordrecht.

Stara, A., Bellinva, R., Velisek, J., Strouhova, A., Kouba, A. a Faggio, C. 2019. Acute exposure of common yabby (*Cherax destructor*) to the neonicotinoid pesticide. *Science of the Total Environment*, 665, 718–723.

Šelešovská, R., Janíková, L. a Chýlková, J. 2018. Sledování pesticidů ve vodách s využitím voltametrických metod. 235–244. *In Waste Forum* (2). Czech Environmental Management Center. Praha.

Tanaka, K., Endo, S. a Kazano, H. 2000. Toxicity of insecticides to predators of rice planthoppers: Spiders, the mirid bug and the dryinid wasp. *Applied Entomology and Zoology*, 35(1), 177–187.



Tietjen, W. J. a Cady, A. B. 2007. Sublethal exposure to a neurotoxic pesticide affects activity rhythms and patterns of four spider species. *The Journal of Arachnology*, 35(2), 396–406.

Tikader, B. K. 1987. *Handbook, Indian Spiders*. Zoological Survey of India. 251 s. Calcutta.

Tomizawa, M. a Casida, J. E. 2005. Neonicotinoid Insecticide Toxicology: Mechanisms of Selective Action. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 45(1), 247–268.

Uetz, G. W., Halaj J. a Cady A. B. 1999. Guild Structure of Spiders in Major Crops. *The Journal of Arachnology*, 27(1), 270–280.

Uhl, P., Bucher, R., Schäfer, R. B. a Entling, M. H. 2015. Sublethal effects of imidacloprid on interactions in a tritrophic system of non-target species. *Chemosphere*, 132, 152–158.

Vetter, R. S., Tarango, J., Campbell, K. A., Tham, Ch., Hayashi, Ch. Y. a Choe, D.-H. 2016. Efficacy of Several Pesticide Products on Brown Widow Spider (Araneae: Theridiidae) Egg Sacs and Their Penetration Through the Egg Sac Silk. *Journal of Economic Entomology*, 109(1), 267–272.

Vink, C. J. 2002. *Lycosidae (Arachnida: Araneae)*. *Fauna of New Zealand* 44, 94 s. Lincoln, Canterbury.

Wickham, J. C., Chadwick, P. R., a Stewart, D. C. 1974. Factors which Influence the Knockdown Effect of Insecticide Products. *Pesticide Science*, 5(5), 657–664.

Wiebes, J. T. 1959. *The Lycosidae and Pisauridae (Araneae) of the Netherlands*. 78 s. Brill.

Wilczek, G. 2017. The Use of Spiders in the Assessment of Cellular Effects of Environmental Stressors. 96–122. In Larramendy, M. L. (ed.) *Ecotoxicology and Genotoxicology Non-traditional Terrestrial Models*. Issues in Toxicology, 32. United Kingdom.

World Spider Catalog. 2020. World Spider Catalog. Online: <https://wsc.nmbe.ch/> (Navštíveno 8. 12. 2020).

Zhang, E. a Nieh, J. C. 2020. Correction: The neonicotinoid imidacloprid impairs honey bee aversive learning of simulated predation. *The Journal of Experimental Biology*, 223(12), 3199–3205.

## 9 PŘÍLOHY



**Obrázek 13:** Připravené živné médium pro octomilky (*Drosophila* sp.).



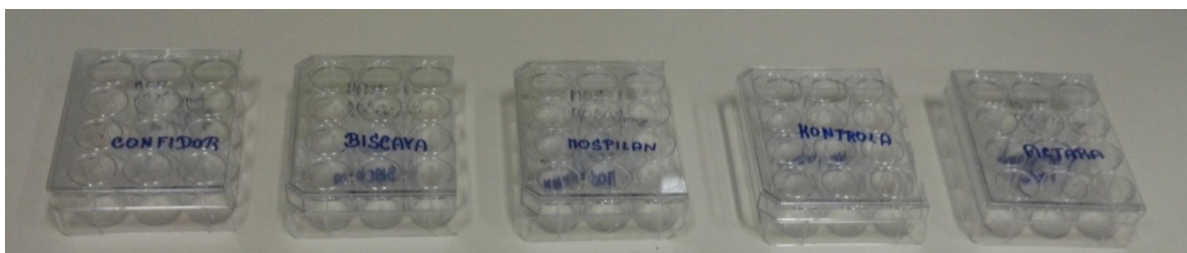
**Obrázek 14:** Aplikační věž s vysunutým stolcem.



**Obrázek 15:** Aplikační věž se zasunutým stolcem.



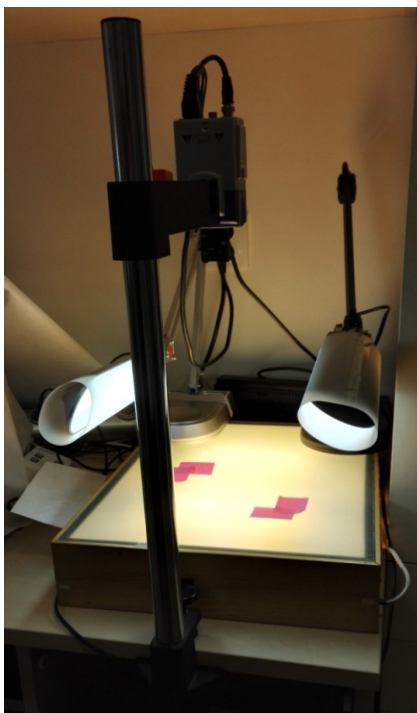
**Obrázek 16:** Detail horní části aplikační věže. Na snímku je viditelná skleněná nádoba, do které byl napipetován přípravek.



**Obrázek 17:** Plastové misky s arénami.



**Obrázek 18:** Plastová miska s arénymi.



**Obrázek 19:** Kamera (Panasonic WV-CP480 SDIII-Super Dynamic) použitá k natáčení pohybových aktivit ošetřených jedinců pavouků.



**Obrázek 20:** Umělohmotná miska s napíchanými špejlemi v modelovací hmotě, která byla použita v experimentu testujícím pasivní šíření pavouků.

**Tabulka 25:** Maximální rychlost pohybu adultních pavouků *Pardosa lugubris* ošetřených neonikotinoidy.

Testovaná látka a její koncentrace	Aplikace	Časový odstup od aplikace (h)	Průměr (cm/s)	SE (cm/s)	Počet jedinců (N) <sup>30</sup>
DV	top	1	6,01	0,96	31
ACT_MX	top	1	2,49	0,36	19
ACT_MN	top	1	8,62	1,37	12
BIS_MX	top	1	1,16	0,21	21
BIS_MN	top	1	2,36	0,89	12
CON	top	1	0,93	0,21	20
MOS_MX	top	1	2,10	0,27	20
MOS_MN	top	1	3,47	0,97	12
DV	top	24	6,89	1,14	30
ACT_MX	top	24	5,49	0,73	18
ACT_MN	top	24	9,81	1,85	12
BIS_MX	top	24	4,40	0,68	20
BIS_MN	top	24	1,52	0,46	10
CON	top	24	1,96	0,36	17
MOS_MX	top	24	5,55	0,87	18
MOS_MN	top	24	7,28	1,39	12
DV	tar	1	7,55	1,35	31
ACT_MX	tar	1	2,60	0,59	18
ACT_MN	tar	1	6,02	1,39	11
BIS_MX	tar	1	1,88	0,34	19
BIS_MN	tar	1	2,17	0,85	12
CON	tar	1	0,93	0,26	18
MOS_MX	tar	1	2,00	0,67	19
MOS_MN	tar	1	3,06	0,60	12
DV	tar	24	6,99	0,91	31
ACT_MX	tar	24	5,18	0,85	16
ACT_MN	tar	24	5,13	1,15	12
BIS_MX	tar	24	5,13	1,54	19
BIS_MN	tar	24	5,75	0,99	12
CON	tar	24	3,14	0,66	18
MOS_MX	tar	24	6,53	1,15	19
MOS_MN	tar	24	5,04	0,98	12

<sup>30</sup> Pavouci, kteří byli použiti v daném experimentu pro každou testovanou látku (včetně koncentrace) a situaci (občas nastala situace, že pavouk nebyl po 24 hodinách k experimentu k dispozici, např. z důvodu mortality, útěku pavouka apod.).

Vysvětlivky: MX – maximální koncentrace, MN – minimální koncentrace, top – topikální kontakt, tar – tarzální kontakt, SE – standardní chyba průměru, 1 a 24 – časový interval mezi ošetřením a vyhodnocením.



**Tabulka 26:** Uražená vzdálenost slíďákem *Pardosa lugubris* za natáčecí dobu (10 minut) po ošetření testovanými přípravky.

Testovaná látka a její koncentrace	Aplikace	Časový odstup od aplikace (h)	Průměr (cm)	SE (cm)	Počet jedinců (N) <sup>31</sup>
DV	top	1	58,78	3,74	31
ACT_MX	top	1	43,52	6,08	19
ACT_MN	top	1	56,69	6,02	12
BIS_MX	top	1	28,68	2,84	21
BIS_MN	top	1	25,50	5,52	12
CON	top	1	17,06	3,35	20
MOS_MX	top	1	41,47	5,23	20
MOS_MN	top	1	31,28	5,45	12
DV	top	24	40,37	3,61	30
ACT_MX	top	24	41,73	3,95	18
ACT_MN	top	24	49,63	5,76	12
BIS_MX	top	24	31,01	3,55	20
BIS_MN	top	24	45,78	7,30	10
CON	top	24	23,36	2,92	17
MOS_MX	top	24	35,65	5,47	18
MOS_MN	top	24	51,81	6,98	12
DV	tar	1	40,12	2,42	31
ACT_MX	tar	1	36,84	5,21	18
ACT_MN	tar	1	27,13	4,34	11
BIS_MX	tar	1	30,14	4,10	19
BIS_MN	tar	1	15,61	4,02	12
CON	tar	1	20,23	4,52	18
MOS_MX	tar	1	23,72	6,63	19
MOS_MN	tar	1	33,66	8,86	12
DV	tar	24	39,04	2,29	31
ACT_MX	tar	24	32,63	4,12	16
ACT_MN	tar	24	42,55	3,55	12
BIS_MX	tar	24	29,66	3,49	19
BIS_MN	tar	24	44,46	6,29	12
CON	tar	24	23,34	4,39	18
MOS_MX	tar	24	43,24	5,20	19
MOS_MN	tar	24	41,68	6,96	12

<sup>31</sup> Pavouci, kteří byli použiti v daném experimentu pro každou testovanou látku (včetně koncentrace) a situaci (občas nastala situace, že pavouk nebyl po 24 hodinách k experimentu k dispozici, např. z důvodu mortality, útěku pavouka apod.).

Vysvětlivky: MX – maximální koncentrace, MN – minimální koncentrace, top – topikální kontakt, tar – tarzální kontakt, SE – standardní chyba průměru, 1 a 24 – časový interval mezi ošetřením a vyhodnocením.

**Tabulka 27:** Tendence k ballooningu u mlád'at snovačky *Phylloneta impressa* po ošetření testovanými látkami.

Testovaná látka a její koncentrace	Aplikace	Časový odstup od aplikace (h)	ANO (%)	SE (%)	Počet jedinců (N) <sup>32</sup>
DV	top	1	85,00	7,98	20
ACT_MX	top	1	61,11	11,49	18
ACT_MN	top	1	75,00	12,50	12
BIS_MX	top	1	25,00	10,83	16
BIS_MN	top	1	75,00	12,50	12
CON	top	1	0,00	0,00	15
MOS_MX	top	1	50,00	11,79	18
MOS_MN	top	1	66,67	13,61	12
DV	top	24	94,12	5,71	17
ACT_MX	top	24	92,86	6,88	14
ACT_MN	top	24	80,00	12,65	10
BIS_MX	top	24	54,55	15,01	11
BIS_MN	top	24	72,73	13,43	11
CON	top	24	28,57	12,07	14
MOS_MX	top	24	76,92	11,69	13
MOS_MN	top	24	72,73	13,43	11
DV	tar	1	100,00	0,00	12
ACT_MX	tar	1	83,33	10,76	12
ACT_MN	tar	1	83,33	10,76	12
BIS_MX	tar	1	83,33	10,76	12
BIS_MN	tar	1	91,67	7,98	12
CON	tar	1	75,00	12,50	12
MOS_MX	tar	1	50,00	14,43	12
MOS_MN	tar	1	100,00	0,00	11
DV	tar	24	100,00	0,00	12
ACT_MX	tar	24	81,82	11,63	11
ACT_MN	tar	24	100,00	0,00	11
BIS_MX	tar	24	91,67	7,98	12
BIS_MN	tar	24	100,00	0,00	11
CON	tar	24	75,00	15,31	8
MOS_MX	tar	24	66,67	13,61	12
MOS_MN	tar	24	100,00	0,00	9

<sup>32</sup> Pavouci, kteří byli použiti v daném experimentu pro každou testovanou látku (včetně koncentrace) a situaci (občas nastala situace, že pavouk nebyl po 24 hodinách k experimentu k dispozici, např. z důvodu mortality, útěku pavouka apod.).

Vysvětlivky: MX – maximální koncentrace, MN – minimální koncentrace, top – topikální kontakt, tar – tarzální kontakt, SE – standardní chyba, 1 a 24 – časový interval mezi ošetřením a vyhodnocením.

**Tabulka 28:** Mortalita u adultních jedinců druhu *Pardosa lugubris* po vystavení vybraným neonikotinoidům.

Testovaná látka a její koncentrace	Aplikace	Časový odstup od aplikace (h)	Mrtví (%)	SE (%)	Počet jedinců (N) <sup>33</sup>
DV	top	1	0,00	0,00	50
ACT_MX	top	1	0,00	0,00	39
ACT_MN	top	1	0,00	0,00	15
BIS_MX	top	1	2,56	2,53	39
BIS_MN	top	1	6,67	6,44	15
CON	top	1	2,56	2,53	39
MOS_MX	top	1	0,00	0,00	38
MOS_MN	top	1	0,00	0,00	15
DV	top	24	0,00	0,00	49
ACT_MX	top	24	0,00	0,00	39
ACT_MN	top	24	0,00	0,00	15
BIS_MX	top	24	5,13	3,53	39
BIS_MN	top	24	33,33	12,17	15
CON	top	24	7,69	4,27	39
MOS_MX	top	24	5,26	3,62	38
MOS_MN	top	24	0,00	0,00	15
DV	tar	1	0,00	0,00	54
ACT_MX	tar	1	0,00	0,00	38
ACT_MN	tar	1	0,00	0,00	15
BIS_MX	tar	1	2,50	2,47	40
BIS_MN	tar	1	0,00	0,00	15
CON	tar	1	5,00	3,45	40
MOS_MX	tar	1	2,50	2,47	40
MOS_MN	tar	1	0,00	0,00	15
DV	tar	24	3,70	2,57	54
ACT_MX	tar	24	2,63	2,60	38
ACT_MN	tar	24	0,00	0,00	15
BIS_MX	tar	24	2,50	2,47	40
BIS_MN	tar	24	0,00	0,00	15
CON	tar	24	10,26	4,86	39
MOS_MX	tar	24	2,56	2,53	39
MOS_MN	tar	24	0,00	0,00	15

<sup>33</sup> Pavouci, kteří byli použiti v daném experimentu pro každou testovanou látku (včetně koncentrace) a situaci (občas nastala situace, že pavouk nebyl po 24 hodinách k experimentu k dispozici, např. z důvodu mortality, útěku pavouka apod.).

Vysvětlivky: MX – maximální koncentrace, MN – minimální koncentrace, top – topikální kontakt, tar – tarzální kontakt, SE – standardní chyba, 1 a 24 – časový interval mezi ošetřením a vyhodnocením.

**Tabulka 29:** Mortalita u nymfálních jedinců druhu *Pardosa lugubris* po vystavení vybraným neonikotinoidům.

Testovaná látka a její koncentrace	Aplikace	Časový odstup od aplikace (h)	Mrtví (%)	SE (%)	Počet jedinců (N) <sup>34</sup>
DV	top	1	0,00	0,00	54
ACT_MX	top	1	27,12	5,79	59
ACT_MN	top	1	46,67	7,44	45
BIS_MX	top	1	66,67	6,09	60
BIS_MN	top	1	70,83	6,56	48
CON	top	1	93,75	3,49	48
MOS_MX	top	1	38,98	6,35	59
MOS_MN	top	1	70,83	6,56	48
DV	top	24	1,92	1,90	52
ACT_MX	top	24	32,76	6,16	58
ACT_MN	top	24	73,33	6,59	45
BIS_MX	top	24	88,33	4,14	60
BIS_MN	top	24	83,33	5,38	48
CON	top	24	97,92	2,06	48
MOS_MX	top	24	42,37	6,43	59
MOS_MN	top	24	83,33	5,38	48
DV	tar	1	0,00	0,00	22
ACT_MX	tar	1	0,00	0,00	23
ACT_MN	tar	1	66,67	9,62	24
BIS_MX	tar	1	91,67	5,64	24
BIS_MN	tar	1	73,91	9,16	23
CON	tar	1	100,00	0,00	24
MOS_MX	tar	1	4,17	4,08	24
MOS_MN	tar	1	78,26	8,60	23
DV	tar	24	0,00	0,00	20
ACT_MX	tar	24	17,39	7,90	23
ACT_MN	tar	24	87,50	6,75	24
BIS_MX	tar	24	91,67	5,64	24
BIS_MN	tar	24	78,26	8,60	23
CON	tar	24	100,00	0,00	24
MOS_MX	tar	24	16,67	7,61	24
MOS_MN	tar	24	82,61	7,90	23

<sup>34</sup> Pavouci, kteří byli použiti v daném experimentu pro každou testovanou látku (včetně koncentrace) a situaci (občas nastala situace, že pavouk nebyl po 24 hodinách k experimentu k dispozici, např. z důvodu mortality, útěku pavouka apod.).

Vysvětlivky: MX – maximální koncentrace, MN – minimální koncentrace, top – topikální kontakt, tar – tarzální kontakt, SE – standardní chyba, 1 a 24 – časový interval mezi ošetřením a vyhodnocením.



**Tabulka 30:** Mortalita u nymfálních jedinců druhu *Phylloneta impressa* po vystavení vybraným neonikotinoidům.

Testovaná látka a její koncentrace	Aplikace	Časový odstup od aplikace (h)	Mrtví (%)	SE (%)	Počet jedinců (N) <sup>35</sup>
DV	top	1	0,00	0,00	20
ACT_MX	top	1	0,00	0,00	18
ACT_MN	top	1	0,00	0,00	12
BIS_MX	top	1	11,11	7,41	18
BIS_MN	top	1	0,00	0,00	12
CON	top	1	16,67	8,78	18
MOS_MX	top	1	0,00	0,00	18
MOS_MN	top	1	0,00	0,00	12
DV	top	24	5,56	5,40	18
ACT_MX	top	24	0,00	0,00	14
ACT_MN	top	24	0,00	0,00	10
BIS_MX	top	24	31,25	11,59	16
BIS_MN	top	24	0,00	0,00	11
CON	top	24	17,65	9,25	17
MOS_MX	top	24	7,14	6,88	14
MOS_MN	top	24	0,00	0,00	11
DV	tar	1	0,00	0,00	12
ACT_MX	tar	1	0,00	0,00	12
ACT_MN	tar	1	0,00	0,00	12
BIS_MX	tar	1	0,00	0,00	12
BIS_MN	tar	1	0,00	0,00	12
CON	tar	1	0,00	0,00	12
MOS_MX	tar	1	0,00	0,00	12
MOS_MN	tar	1	0,00	0,00	11
DV	tar	24	0,00	0,00	12
ACT_MX	tar	24	0,00	0,00	11
ACT_MN	tar	24	0,00	0,00	11
BIS_MX	tar	24	0,00	0,00	12
BIS_MN	tar	24	0,00	0,00	11
CON	tar	24	11,11	10,48	9
MOS_MX	tar	24	0,00	0,00	12
MOS_MN	tar	24	0,00	0,00	9

<sup>35</sup> Pavouci, kteří byli použiti v daném experimentu pro každou testovanou látku (včetně koncentrace) a situaci (občas nastala situace, že pavouk nebyl po 24 hodinách k experimentu k dispozici, např. z důvodu mortality, útěku pavouka apod.).

Vysvětlivky: MX – maximální koncentrace, MN – minimální koncentrace, top – topikální kontakt, tar – tarzální kontakt, SE – standardní chyba, 1 a 24 – časový interval mezi ošetřením a vyhodnocením.